

Zvýšení nutriční hodnoty ovocné kojenecké a dětské výživy přidavkem mléčné bílkoviny

Bc. Hana Macháčková

Diplomová práce
2012



Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická

Univerzita Tomáše Bati ve Zlíně
Fakulta technologická
Ústav technologie a mikrobiologie potravin
akademický rok: 2011/2012

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Bc. Hana MACHÁČKOVÁ**
Osobní číslo: **T10413**
Studijní program: **N 2901 Chemie a technologie potravin**
Studijní obor: **Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin**

Téma práce: **Zvýšení nutriční hodnoty ovocné kojenecké a dětské výživy přidavkem mléčné bílkoviny**

Zásady pro vypracování:

I. Teoretická část

1. Charakteristika kojenecké a dětské výživy, rozdělení dle věku dítěte.
2. Příjem živin v kojeneckém a dětském věku.
3. Legislativa týkající se kojenecké a dětské výživy.
4. Význam bílkovin v kojenecké a dětské výživě.

II. Praktická část

1. Stanovení základních chemických charakteristik vybraných druhů ovocných kojeneckých a dětských výživ s přidavkem mléčné bílkoviny.
2. Stanovení obsahu bílkovin a aminokyselin ve vybraných druzích ovocných kojeneckých a dětských výživ s přidavkem mléčné bílkoviny. Porovnání biologické hodnoty bílkovin ve vzorcích.

Rozsah diplomové práce:

Rozsah příloh:

Forma zpracování diplomové práce: **tištěná/elektronická**

Seznam odborné literatury:

[1] NEVORAL, J. a kol. Zdravá výživa malých dětí: od narození do 6 let. Jinočany: H&H Vyšehradská, 2003. 434 s. ISBN 80-86-022-93-5.

[2] NEVORAL, J. Kojenecká výživa. Potravinářská revue, 2010, 6, 7. s. 22-25.

[3] KOLEKTIV AUTORŮ. Referenční hodnoty pro příjem živin. Praha: Výživaservis, 2011. 192 s. ISBN 978-80-254-6987-3.

[4] REEDS, J.P. Criteria and Significance of Dietary Protein Sources in Humans. Dispensable and Indispensable Amino Acids for Humans. The Journal of Nutrition, 2000, 130. s. 1835-1840.

Vedoucí diplomové práce:

doc. Ing. Jan Hrabě, Ph.D.

Ústav technologie a mikrobiologie potravin

Datum zadání diplomové práce:

1. února 2012

Termín odevzdání diplomové práce:

2. května 2012

Ve Zlíně dne 10. února 2012


doc. Ing. Roman Čermák, Ph.D.
děkan




doc. Ing. František Buňka, Ph.D.
ředitel ústavu

Příjmení a jméno: Macháčková Hana Obor: Technologie, hygiena a ekonomika výroby potravin

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že

- beru na vědomí, že odevzdáním diplomové práce souhlasím se zveřejněním své práce podle zákona č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, bez ohledu na výsledek obhajoby ¹⁾;
- beru na vědomí, že diplomová práce bude uložena v elektronické podobě v univerzitním informačním systému dostupná k nahlédnutí, že jeden výtisk diplomové/bakalářské práce bude uložen na příslušném ústavu Fakulty technologické UTB ve Zlíně a jeden výtisk bude uložen u vedoucího práce;
- byla jsem seznámena s tím, že na moji diplomovou práci se plně vztahuje zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, zejm. § 35 odst. 3 ²⁾;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 1 autorského zákona má UTB ve Zlíně právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla v rozsahu § 12 odst. 4 autorského zákona;
- beru na vědomí, že podle § 60 ³⁾ odst. 2 a 3 mohu užít své dílo – diplomovou práci nebo poskytnout licenci k jejímu využití jen s předchozím písemným souhlasem Univerzity Tomáše Bati ve Zlíně, která je oprávněna v takovém případě ode mne požadovat přiměřený příspěvek na úhradu nákladů, které byly Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně na vytvoření díla vynaloženy (až do jejich skutečné výše);
- beru na vědomí, že pokud bylo k vypracování diplomové práce využito softwaru poskytnutého Univerzitou Tomáše Bati ve Zlíně nebo jinými subjekty pouze ke studijním a výzkumným účelům (tedy pouze k nekomerčnímu využití), nelze výsledky diplomové práce využít ke komerčním účelům;
- beru na vědomí, že pokud je výstupem diplomové práce jakýkoliv softwarový produkt, považují se za součást práce rovněž i zdrojové kódy, popř. soubory, ze kterých se projekt skládá. Neodevzdání této součásti může být důvodem k neobhájení práce.

Ve Zlíně 12.4.2012


.....

¹⁾ zákon č. 111/1998 Sb. o vysokých školách a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších právních předpisů, § 47 Zveřejňování závěrečných prací:

(1) Vysoká škola nevydělečně zveřejňuje disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce, u kterých proběhla obhajoba, včetně posudků oponentů a výsledku obhajoby prostřednictvím databáze kvalifikačních prací, kterou spravuje. Způsob zveřejnění stanoví vnitřní předpis vysoké školy.

(2) Disertační, diplomové, bakalářské a rigorózní práce odevzdané uchazečem k obhajobě musí být též nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněny k nahlížení veřejnosti v místě určeném vnitřním předpisem vysoké školy nebo není-li tak určeno, v místě pracoviště vysoké školy, kde se má konat obhajoba práce. Každý si může ze zveřejněné práce pořizovat na své náklady výpisy, opisy nebo rozmnoženiny.

(3) Platí, že odevzdáním práce autor souhlasí se zveřejněním své práce podle tohoto zákona, bez ohledu na výsledek obhajoby.

²⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 35 odst. 3:

(3) Do práva autorského také nezasahuje škola nebo školské či vzdělávací zařízení, užije-li nikoli za účelem přímého nebo nepřímého hospodářského nebo obchodního prospěchu k výuce nebo k vlastní potřebě dílo vytvořené žákem nebo studentem ke splnění školních nebo studijních povinností vyplývajících z jeho právního vztahu ke škole nebo školskému či vzdělávacímu zařízení (školní dílo).

³⁾ zákon č. 121/2000 Sb. o právu autorském, o právech souvisejících s právem autorským a o změně některých zákonů (autorský zákon) ve znění pozdějších právních předpisů, § 60 Školní dílo:

(1) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení mají za obvyklých podmínek právo na uzavření licenční smlouvy o užití školního díla (§ 35 odst. 3). Odpírá-li autor takového díla udělit svolení bez vážného důvodu, mohou se tyto osoby domáhat nahrazení chybějícího projevu jeho vůle u soudu. Ustanovení § 35 odst. 3 zůstává nedotčeno.

(2) Není-li sjednáno jinak, může autor školního díla své dílo užít či poskytnout jinému licenci, není-li to v rozporu s oprávněnými zájmy školy nebo školského či vzdělávacího zařízení.

(3) Škola nebo školské či vzdělávací zařízení jsou oprávněny požadovat, aby jim autor školního díla z výdělku jím dosaženého v souvislosti s užitím díla či poskytnutím licence podle odstavce 2 přiměřeně přispěl na úhradu nákladů, které na vytvoření díla vynaložily, a to podle okolností až do jejich skutečné výše; přitom se přihlédne k výši výdělku dosaženého školou nebo školským či vzdělávacím zařízením z užití školního díla podle odstavce 1.

ABSTRAKT

Předkládaná diplomová práce se zabývá problematikou zvýšení nutriční hodnoty ovocné kojenecké a dětské výživy přidavkem mléčné bílkoviny. V teoretické části diplomové práce byla charakterizována kojenecká a dětská výživa z hlediska rozdělení dle věku dítěte, popsán příjem živin nezbytných v kojeneckém a dětském věku, pozornost byla dále zaměřena na legislativu týkající se kojenecké a dětské výživy a také na význam bílkovin v kojenecké a dětské výživě. V diplomové práci byly analyzovány jak ovocné kojenecké a dětské výživy běžně dostupné v obchodní síti, tak i laboratorně vyrobené produkty. Ve všech případech se jednalo o výrobky dodané společnostmi Hamé, s.r.o. U všech vzorků byl stanoven obsah sušiny, popele, celkových dusíkatých látek, pH, titrační kyselost, refraktometrická sušina a obsah aminokyselin. Na základě výsledků můžeme konstatovat, že ze vzorků hodnocených v první fázi experimentu, lze vzorek banán tvaroh – 30 % vzhledem k nejvyšší hodnotě indexu esenciálních aminokyselin i vzhledem k vysokému obsahu bílkovin splňujícímu požadavek přílohy 8 k vyhlášce č. 54/2004 Sb. vyhodnotit z nutričního hlediska jako nejvhodnější. Ze vzorků analyzovaných ve druhé fázi experimentu byl z nutričního hlediska jako nejvhodnější vyhodnocen vzorek banán tvaroh – 30 % s přidavkem 5 % kaseinátu vápenatého, avšak je nutné zvážit, zda je tento přírůstek nezbytný, neboť vzorek banán tvaroh – 30 % bez další přidané mléčné bílkoviny je z nutričního hlediska také velmi vhodný a jeho výroba je jistě ekonomicky méně náročná.

Klíčová slova: ovocná kojenecká a dětská výživa, tvaroh, jogurt, smetana, nutriční hodnota, bílkoviny, aminokyseliny, index esenciálních aminokyselin

ABSTRACT

This thesis deals with increasing nutritional value of fruit infant and baby food by adding milk protein. The theoretic part of the thesis consists of characterization of baby and infant nutrition and its division according to the age of the children, this part also includes a description of the nutrient intake necessary for infants and babies, there is also a focus on legislation of the infant and baby food and the importance of protein in infant and child nutrition. Fruit infant and baby food both commercially available in the trade network and produced in the laboratory was analysed. In all cases, the products were provided by Hamé, s.r.o. The content of dry matter, ash, total nitrogen, pH, titrating acidity, refractometric dry matter and content of amino acids was determined in all samples. Based on the results it can be concluded that the sample banana cottage cheese – 30 % can be evaluated (from a nutritional point of view) as most appropriate from the samples analyzed in the first phase of the experiment. This sample showed the highest value of essential amino acid index and possessed high protein content meeting the requirement of Annex 8 to the Decree No. 54/2004 Coll. Concerning the samples analyzed in the second phase of the experiment, the best sample (from a nutritional point of view) was found banana cottage cheese – 30 % with 5 % calcium caseinate. Nevertheless, it must be considered whether this supplement is necessary, because the sample banana cottage cheese – 30 % with no added milk protein is nutritionally very suitable and its production is with no doubt economically less demanding.

Keywords: fruit infant and baby food, cottage cheese, yoghurt, cream, nutritional value, proteins, amino acids, essential amino acid index

Touto cestou bych velmi ráda poděkovala vedoucímu své diplomové práce, doc. Ing. Janu Hraběti, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a připomínky. Děkuji také doc. Ing. Františku Buňkovi, Ph.D. za umožnění analýzy aminokyselinového složení a Ing. Ludmile Zálešákové za pomoc v laboratoři při provádění analýzy aminokyselin. Poděkování patří rovněž Ing. Liboru Bůškovi, řediteli závodu Fruta Podivín, a.s., jenž je součástí společnosti Hamé, s.r.o., za poskytnutí vzorků k analýzám a manažerce jakosti Ing. Dagmar Donéové za poskytnuté materiály, využité v mé práci. Dále děkuji také Ing. Heleně Čížkové, Ph.D. za poskytnutí nepublikovaných materiálů využitých při psaní diplomové práce. Velké poděkování patří zároveň i mé rodině a snoubenci za morální podporu a pomoc v průběhu celého studia.

Prohlašuji, že odevzdaná verze diplomové práce a verze elektronická nahraná do IS/STAG jsou totožné.

OBSAH

ÚVOD	11
I TEORETICKÁ ČÁST	13
1 KOJENECKÁ A DĚTSKÁ VÝŽIVA	14
1.1 HISTORIE A SOUČASNOST KOJENECKÉ A DĚTSKÉ VÝŽIVY	15
1.2 KOJENECKÁ A DĚTSKÁ VÝŽIVA DLE VĚKU DÍTĚTE.....	16
1.2.1 Období výhradně mléčné výživy	16
1.2.1.1 Přirozená výživa novorozence a kojence – kojení	17
1.2.1.2 Náhradní mléčná kojenecká výživa – počáteční mléka	19
1.2.2 Přechodné období	21
1.2.2.1 Nemléčné příkrmy.....	21
1.2.2.2 Mléčné obilné kaše	22
1.2.2.3 Pokračovací mléka	22
1.2.2.4 Nápoje pro kojence	22
1.2.3 Období smíšené stravy	23
1.2.4 Výživa dětí po 1. roce života.....	23
2 PŘÍJEM ŽIVIN V KOJENECKÉM A DĚTSKÉM VĚKU	24
2.1 ENERGIE	24
2.2 BÍLKOVINY	24
2.3 LIPIDY	25
2.4 SACHARIDY, VLÁKNINA.....	26
2.5 VITAMINY	26
2.5.1 Vitaminy rozpustné v tucích	27
2.5.2 Vitaminy rozpustné ve vodě.....	28
2.6 MINERÁLNÍ LÁTKY A STOPOVÉ PRVKY.....	30
3 LEGISLATIVA TÝKAJÍCÍ SE KOJENECKÉ A DĚTSKÉ VÝŽIVY	32
4 VÝZNAM BÍLKOVIN V KOJENECKÉ A DĚTSKÉ VÝŽIVĚ	35
II PRAKTICKÁ ČÁST	37
5 CÍL PRÁCE	38
6 METODIKA PRÁCE	39
6.1 POUŽITÉ CHEMIKÁLIE, POMŮCKY A PŘÍSTROJE.....	39
6.1.1 Chemikálie	39
6.1.2 Pomůcky a přístroje.....	39
6.2 CHARAKTERISTIKA VZORKŮ A POPIS EXPERIMENTU.....	40
6.3 ZÁKLADNÍ CHEMICKÉ ANALÝZY	44
6.3.1 Stanovení sušiny.....	44
6.3.2 Stanovení popele	45
6.3.3 Stanovení pH	46
6.3.4 Stanovení titrační kyselosti	46

6.3.5	Stanovení rozpustné sušiny refraktometricky	47
6.3.6	Stanovení celkového obsahu dusíkatých látek Kjeldahlovou metodou	47
6.4	STANOVENÍ OBSAHU AMINOKYSELIN	49
6.5	STATISTICKÉ VYHODNOCENÍ VÝSLEDKŮ	52
7	VÝSLEDKY PRÁCE A DISKUZE	54
7.1	ZÁKLADNÍ CHEMICKÉ ANALÝZY	54
7.1.1	Stanovení celkového obsahu dusíkatých látek	54
7.1.2	Stanovení sušiny	58
7.1.3	Stanovení popele	59
7.1.4	Stanovení pH	60
7.1.5	Stanovení titrační kyselosti	61
7.1.6	Stanovení rozpustné sušiny refraktometricky	61
7.2	STANOVENÍ OBSAHU AMINOKYSELIN	62
7.3	POROVNÁNÍ BIOLOGICKÉ HODNOTY BÍLKOVIN VE VZORCÍCH	71
	ZÁVĚR	77
	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	79
	SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK	89
	SEZNAM OBRÁZKŮ	90
	SEZNAM TABULEK	91
	SEZNAM PŘÍLOH	92

ÚVOD

Pro každý žijící organismus patří výživa mezi nezbytné životní podmínky, bez nichž se žádný organismus neobejde. Výživa totiž dodává nejen potřebnou energii, ale současně slouží k zajištění všech biologických, biochemických a fyzikálních procesů probíhajících v organismu. Poruchy ve výživě se poté promítají do omezené funkčnosti každého organismu, tedy i organismu lidského [1].

Kojenecká a dětská výživa patří v současnosti k jedné z nejrychleji se rozvíjejících kategorií v segmentu potravin. Pod pojmem kojenecká a dětská výživa je skryta celá škála výrobků od kojeneckých mlék přes dětské kaše až po masozeleninové či ovocné příkrmy nebo nápoje [2]. Vhodná výživa v průběhu prvních dvou let života je základem pro optimální růst, zdraví a psychosociální vývoj dítěte [3].

Původní role kojenecké a dětské výživy spočívala především v zajištění růstu dítěte, resp. jeho základních biologických potřeb, avšak tato role je v současném kontextu již překonaná. Současné studie potvrzují, že strava dítěte může významně ovlivnit chování jeho genů, tedy nastavení metabolických procesů, a ovlivnit tak pravděpodobnost vzniku srdečně-cévních onemocnění a obezity v pozdějším věku [2]. Organismus kojence se totiž výrazně odlišuje od organismu dospělého člověka v rychlosti růstu, vyvíjí se a vytváří si podmínky pro svůj další život. Do 8. měsíce života se hmotnost kojence přibližně zdvojnásobí, do roka od narození dítěte je hmotnost téměř trojnásobná. K tomu je zapotřebí značné množství energie, bílkovin a lipidů. S rychlostí růstu tkání souvisí velmi vysoká relativní spotřeba bílkovin, ale pouze do určitých mezí. Nadměrný příjem bílkovin může příliš zatížit nezralé ledviny a vést k budoucí dětské obezitě, zatímco nízký příjem bílkovin je spojen s rizikem nedostatečné bílkovinné výživy a tím i rizikem nedostatečné tvorby tkání [1].

Ovocné kojenecké a dětské výživy by tedy měly obsahovat složky důležité pro správný vývoj dětského organismu. Při výrobě by měla být věnována patřičná pozornost výběru surovin, postupům nakládání se surovinami, procesu výroby i podmínkám zacházení s konečnými produkty [4].

Diplomová práce se zabývá problematikou zvýšení nutriční hodnoty ovocné kojenecké a dětské výživy přidavkem mléčné bílkoviny. V teoretické části diplomové práce je věnována pozornost historii a současnosti kojenecké a dětské výživy, kojenecké a dětské

výživě z hlediska jejího rozdělení dle věku dítěte, příjmu živin v kojeneckém a dětském věku, legislativě týkající se kojenecké a dětské výživy a významu bílkovin v kojenecké a dětské výživě. V praktické části diplomové práce jsou prezentovány metodiky provedených chemických analýz (stanovení obsahu sušiny, popele, celkových dusíkatých látek, pH, titrační kyselosti, refraktometrické sušiny a obsahu aminokyselin metodou iontově-výměnné kapalinové chromatografie) u vybraných druhů ovocných kojeneckých a dětských výživ. Jsou zde vyhodnoceny výsledky jednotlivých stanovení a dále je porovnána biologická hodnota bílkovin ve vybraných druzích ovocných kojeneckých a dětských výživ.

I. TEORETICKÁ ČÁST

1 KOJENECKÁ A DĚTSKÁ VÝŽIVA

Výživa člověka má své počátky ve výživě matky a následně plodu. Po narození pokračuje už jako výživa samostatného jedince. Kojenecká výživa (do 1 roku) má 2 základní funkce:

1. Fyziologická potřeba – poskytuje energii a potřebné živiny.
2. Podpora vývoje emočních zkušeností – podporuje proces získávání nových zkušeností [1].

V žádném jiném věkovém období se výživa nemění tak významně jako během prvního roku života. V kojeneckém období stoupá např. potřeba energie více než dvakrát, zatímco v dalších letech se zvyšuje jen o 10 % za rok. Potřeba energie na kg tělesné hmotnosti je proto v prvním roce života nejvyšší a odpovídá především růstovým požadavkům. Podobně jako potřeba energie je zvýšena i potřeba živin [5,6].

Nedostatečná nebo nevyvážená strava v období růstu a vývoje organismu proto může mít mnohem závažnější důsledky ve srovnání s dospělým, již nerostoucím jedincem. Kojenec má jen velmi malé kompenzační mechanismy. Na jedné straně se jedná o velmi malé zásoby živin a na druhé straně o nezralé metabolické pochody. Nezralé jsou také homeostatické funkce (např. ledviny mají jen velmi nízkou koncentrační schopnost, a kojeneček je proto velmi citlivý k nedostatku vody nebo nadbytku soli). Z těchto důvodů se u zdravých i nemocných kojenců rychle projevuje jakákoli nevyváženost stravy, která je patrná zvláště na tělesné hmotnosti a délce. Kvalita výživy ovlivňuje růst, diferenciaci a funkci jednotlivých orgánů, např. centrálního nervového systému [5]. V současné době se stává zřejmým, že výživa v kojeneckém věku ovlivňuje nejen celoživotní stravovací návyky, ale má i hluboký vliv na zdraví a fyziologické funkce v dospělosti a rozvoj civilizačních chorob, např. obezity nebo vysokého krevního tlaku [5,7,8]. Hovoří se o tzv. metabolickém programování, např. bylo zjištěno, že nízká tělesná hmotnost v jednom roce života způsobená výživou je významně spojena s vyšší úmrtností v 65 letech na koronární onemocnění [5].

V období od jednoho roku života se začíná dramaticky měnit způsob výživy. Dítě začínající život jako pasivní příjemce jídla, přechází do fáze, která vyžaduje určitou kontrolu rodiči a končí jako jedineček, který o své výživě rozhoduje zcela samostatně [6].

1.1 Historie a současnost kojenecké a dětské výživy

Z doby 3000 let před naším letopočtem jsou k dispozici jedny z prvních dokumentů o výživě dětí [9]. Po celou dobu historie lidstva se zdůrazňovalo, že mateřské mléko (dále jen MM) je nenahraditelné [10]. V situacích, kdy měla matka nedostatek mléka nebo nemohla či nechtěla kojit, byly hojně využívány kojné [11,12]. Až do konce 16. století bylo nájemné kojení výsadou aristokracie, v 17. století se stalo běžným i ve vrstvách vyšší buržoazie a postupně zachvátilo i střední a nejnižší vrstvy [13]. V 18. století byl o kojné tak velký zájem, že byly zřizovány zvláštní instituce, které je registrovaly [14]. Téměř žádná matka nekojila sama, kojení bylo považováno za něco vulgárního a příliš tělesného. Za těchto podmínek úmrtnost kojenců nesmírně stoupala [13]. Z tohoto důvodu se situace postupně obracela a bylo propagováno kojení vlastní matkou a zájem se též soustředil na náhradní výživu zvířecím mlékem [13,14]. Jednalo se zejména o mléko kravské, kozí, kobydí či oslí [14,15,16]. Mléka byla podávána syrová, převařená, ředěná či obohacená medem [16] lžičkou nebo dutým rohem opatřeným na zúženém konci jelení kůží jako dudlíkem [14]. Použití mléčných lahví umožnil až vynález gumového dudlíku z roku 1845 [15,16].

Impulzem k zahájení vývoje náhradních kojeneckých mlék bylo zjištění, že děti živené neupraveným kravským mlékem měly vyšší úmrtnost než děti kojené [12,16]. V roce 1838 německý vědec Franz Simon poprvé provedl chemickou analýzu MM a objevil zásadní rozdíly ve složení MM a kravského mléka, což bylo inspirací pro první pokusy v této oblasti [14,16]. S vývojem přípravků umělé výživy (na bázi kravského mléka) nastal určitý útlum přirozené výživy. Kravské mléko, které je svým složením ze zvířecích mlék MM nejbližší, bylo a je v umělé výživě stále více upravováno tak, aby se svým obsahem maximálně přiblížilo MM [9].

Výroba kojeneckého mléka na území tehdejšího Československa začala v roce 1936 vybudováním prvního závodu na výrobu sušených kojeneckých mlék a cereálních kaší v Moravském Krumlově [14,16]. V roce 1942 byl vybudován specializovaný závod na kojeneckou výživu v Hlinsku, ve kterém byla zahájena výroba plnotučného sušeného mléka určeného pro kojeneckou výživu pod značkou Nido a kojeneckého mléka pro dietní účely – zakysaného mléka Eledon [14]. Později náš průmysl dětské výživy vyvinul Sunar (sušené národní plnotučné mléko), dále sušené dietní polotučné mléko Evico a sucharovou kaši Sunarka. V 60. letech byl tento systém kojenecké výživy zdokonalen výrobou

humanizovaného, adaptovaného a fortifikovaného mléka Feminar, které se touto úpravou a složením blížilo MM. V současné době kojení prožívá renesanci a jsou snahy docílit toho, aby matky kojily své děti nejméně 6 měsíců, samozřejmě i déle, pokud je to možné [13]. Po 6. měsíci výhradního kojení nebo náhradní mléčné kojenecké výživy, ale nejdříve po ukončení 4. měsíce věku je vhodné začít podávat příkrmy [17]. Nejstarším výrobcem kojenecké a dětské výživy ovocného typu u nás a také prvním producentem nemléčných výrobků ve východní a střední Evropě je společnost Nutricia Deva, a.s., která v roce 1950 zahájila v Novém Městě nad Metují výrobu kojenecké a dětské výživy ovocného typu do plechovek. V roce 1975 zde byla zahájena také výroba zeleninových příkrmů [18]. V roce 2006 společnost Hamé, s.r.o. uvedla na náš trh první českou BIO kojeneckou výživu BIO Hamánek [19]. V současnosti se na území České republiky nachází několik konzervářenských podniků (např. Nutricia Deva, a.s., Hero Czech, s.r.o., Nestlé, a.s., Linea Nivnice, a.s. či Hamé, s.r.o.) zabývajících se výrobou ovocných kojeneckých a dětských výživ s cílem dosažení co nejvyšší kvality.

1.2 Kojenecká a dětská výživa dle věku dítěte

Výživu kojence lze rozdělit do tří období, které do sebe postupně přecházejí, a každé z nich trvá přibližně 4 – 6 měsíců:

1. Období výhradně mléčné výživy – dítě je plně kojeno nebo živeno mléčnou kojeneckou výživou vhodnou pro tento věk – počátečním mlékem.
2. Období přechodné – dítě dostává k MM nebo ke kojenecké mléčné výživě kašovitě příkrmy.
3. Období smíšené stravy – do jídelníčku je postupně zařazována vhodně upravená strava dospělých [5,6,20].

Jednotlivá období nejsou určována jen funkční schopností zažívacího traktu dítěte, ale také jeho psychomotorickým vývojem a funkční schopností ledvin [6].

1.2.1 Období výhradně mléčné výživy

V tomto období dostává dítě výhradně MM nebo výrobek mléčné kojenecké výživy [20]. Množství mléka pro zdravého kojence je přibližně 1/6 jeho hmotnosti, tj. cca

150 – 170 ml.kg⁻¹.den⁻¹, max. však 1 litr mléka denně. Dítě nepotřebuje dostávat žádné další tekutiny [5,6,20].

1.2.1.1 Přírozená výživa novorozence a kojence – kojení

Nejpřírozenější způsob výživy novorozeného dítěte je dle globálního doporučení Světové zdravotnické organizace (World Health Organisation, dále jen WHO) pro výživu kojenců a malých dětí výhradní kojení do 6. měsíce života [3,21,22,23]. MM je komplexní biologická tekutina obsahující lipidy, bílkoviny, sacharidy, vitaminy a minerální látky [20,21,24], a je proto doporučováno jako nejbohatší zdroj životně důležitých živin pro kojence [25]. Právě díky jeho složení se jednotlivé komponenty MM velmi dobře vstřebávají, tráví a nezatěžují příliš nezralý zažívací trakt ani vylučovací systém. Chrání dítě před rozvojem infekce a podporují vývoj imunitního systému [26]. MM má mezi savci nejnižší koncentraci bílkovin (0,9 – 1,3 g.100 ml⁻¹), avšak tato relativně nízká hladina zajišťuje optimální růst a vývoj dítěte do 6 měsíců a zároveň představuje příznivě nízkou zátěž pro funkčně nezralé ledviny [20,22]. Bílkoviny MM poskytují též vyvážený zdroj aminokyselin (dále jen AMK) pro novorozence. Nejvíce zastoupenou AMK je kyselina glutamová. Převažují syrovátkové bílkoviny (80 %) α -laktalbumin, laktoferin (dále jen LF) a imunoglobuliny nad kaseinovými bílkovinami (20 %) zastoupenými hlavně β -kaseinem. MM patří mezi mléka albuminová, kravské mléko je kaseinového typu. Rozdíly v bílkovinném složení MM a kravského mléka jsou uvedeny v Tabulce 1. Lipidy MM jsou důležitým zdrojem energie, cholesterolu, esenciálních mastných kyselin, nenasycených mastných kyselin a vitaminů rozpustných v tucích, zejména vitaminu E. Až 98 % tvoří triacylglyceroly, 1 % fosfolipidy a 0,3 – 0,4 % cholesterol. Hlavním sacharidem MM je laktóza dosahující koncentrace 40 – 60 g.l⁻¹. V současnosti bylo identifikováno více než 200 oligosacharidů MM (dále jen OMM). U OMM byly identifikovány 2 možné mechanismy účinku [24]: OMM působí jako prebiotika (pomáhají kojenci různým způsobem optimálně ovlivňovat složení střevní mikroflóry) a zabraňují adhezi patogenů na epitelové buňky (posilují tak vlastní imunitu kojence a ovlivňují jeho zdravý vývoj) [27].

Tabulka 1 Bílkovinné složení MM a kravského mléka
(v g.100 ml⁻¹) [24]

Složka	Mateřské mléko	Kravské mléko
Bílkoviny celkem	0,88	3,30
Kasein celkem	0,31	2,60
Syrovátkové bílkoviny	0,57	0,70
α-laktalbumin	0,15	0,12
β-laktoglobulin	0,00	0,30
Laktoferin	0,15	stopy
Sérumalbumin	0,05	0,10
Lysozym	0,05	0,15
Imunoglobuliny	0,10	0,10
Ostatní bílkoviny	0,07	0,15

Kromě živin MM obsahuje velké množství antibakteriálních látek, jako jsou imunoglobuliny, LF, laktoferin, lysozym, laktoperoxidáza, haptokorin, volné mastné kyseliny, antimikrobiální peptidy atd. Zatímco v kravském mléce je za nejvýznamnější antimikrobiální činitel považován laktoperoxidázový komplex, v MM jsou v tomto směru považovány za neaktivnější LF a lysozym [24]. LF má široké spektrum fyziologických účinků [28]. Jeho antibakteriální efekt spočívá ve vychytávání volného železa, které je růstovým faktorem většiny bakterií, zejména koliformních. Lysozym je schopen degradovat vnější buněčnou stěnu gram pozitivních bakterií a v synergickém vztahu s LF je schopen inaktivovat bakterie (LF poskytuje prostřednictvím navázání lipopolysacharidů lysozymu přístup k degradaci vnitřní proteoglykemické matrix, čímž dochází k inaktivaci mikroorganismů) [24]. Na počátku 21. století se také objevily první vědecké práce zkoumající potenciální probiotické vlastnosti bakteriálních kmenů izolovaných z MM. V MM byly nejčastěji identifikovány následující bakteriální druhy: *Staphylococcus*, *Streptococcus*, *Lactococcus*, *Enterococcus*, *Lactobacillus* a *Bifidobacterium* [29]. Zatím neexistuje žádné uspokojivé vysvětlení, jakou cestou by se měly bakterie druhu *Bifidobacterium*, popř. bakterie mléčného kvašení do MM dostat. MM uvnitř mléčné žlázy je (u zdravých jedinců) sterilní. Přírodním místem výskytu bakterií druhu *Bifidobacterium* je trávicí trakt, včetně ústní dutiny. Bakterie druhu *Bifidobacterium* jsou v MM tedy

s největší pravděpodobností přítomny jako sekundární kontaminace, přičemž jako hlavní zdroj se jeví sám kojeneček v případě, že má plně vyvinutou střevní mikroflóru s obsahem těchto bakterií [24]. Vzhledem k tomu, že MM je zlatým standardem pro výživu kojence, a tedy i vývoj kojenečských formulí, je do budoucna nezbytné objasnění úlohy bakterií přítomných v MM a jejich vztahu k prebiotickým OMM, které podporují růst zejména bakterií druhu *Bifidobacterium* a *Lactobacillus* [29].

1.2.1.2 Náhradní mléčná kojenecká výživa – počáteční mléka

Počáteční mléka (formule) jsou doporučována pro novorozence a kojence (0 – 12 měsíců), pokud nemohou být kojeni [5,6]. Obvykle mají u svého názvu připojenou číslici 1 nebo slovo baby [20,22]. Jako zdroj bílkovin se nejčastěji používá bílkovina kravského mléka, může být použita i bílkovina sóje nebo hydrolyzovaná bílkovina kravského mléka. V současné době je na trhu k dostání velké množství výrobků kojenecké mléčné výživy [20]:

- Počáteční mléka obsahující bílkovinu kravského mléka

Srovnání zralého MM a mléka kravského (viz Tabulka 2) ukazuje na poměrně velké rozdíly, které naznačují, že míra technologických zásahů při výrobě počátečního mléka je velká [22]. Bílkovina kravského mléka může být neadaptovaná (poměr bílkovin syrovátky ke kaseinu je 20:80) nebo adaptovaná se změněným poměrem syrovátkových bílkovin ke kaseinu (poměr bílkovin syrovátky ke kaseinu je vyšší nebo roven 1). Adaptovaná bílkovina je stravitelnější (vhodnější zejména pro nedonošené děti). Mléka s neadaptovanou bílkovinou (s převahou kaseinu) mají vyšší sytívanost [5,6]. Stávající doporučení připouští kromě laktózy i přítomnost jiných sacharidů (např. sacharóza, maltóza, maltodextriny a škrob) [22]. Kojeneček by však měl v prvních 4 měsících života dostávat přednostně mléka, která obsahují výhradně laktózu [5,6]. Příklad sacharózy zvyká děti na sladkou chuť (laktóza má nižší sladivost) a je to též nevýhodné ve vztahu ke kariogenezi chrupu [22]. Lipidy v počátečních formulích kryjí asi 50 % kalorické potřeby dítěte a musí obsahovat dostatečné množství kyseliny linolové a α -linolenové, které kryje 3 % energie. Množství minerálních látek, stopových prvků a vitaminů jsou přesně určena závaznými doporučeními [5,6].

Tabulka 2 Složení MM a kravského mléka (v g.l⁻¹)
[24]

Složka	Mateřské mléko	Kravské mléko
Celková sušina	129,00	125,00
Kasein	4,00	28,00
Laktoferin	2,00	0,03
Tuk	38,00	31,00
Laktóza	71,00	48,00
Oligosacharidy	3,00 – 8,00	0,03 – 0,06
Riboflavin	0,43	1,57
Vápník	0,34	1,14
Fosfor	0,14	0,93

V případě, že má dítě nějaké zdravotní problémy, existují výrobky speciální kojenecké výživy. Pro děti v tomto období jsou opět označeny číslem 1 [20]:

- Počáteční výživa ze sóje

Vyrábí se z izolované sójové bílkoviny, neobsahuje laktózu. Protože obsahuje rostlinnou bílkovinu, musí být obohacena metioninem, karnitinem, taurinem, cysteinem, vápníkem, železem, stopovými prvky a vitaminy [5,6]. Důležité je odlišení tzv. sójového mléka od preparátů kojenecké výživy na bázi sójového mléka. Volně prodejná sójová mléka nejsou vhodná k výživě kojenců [30]. Počáteční výživa ze sóje je vhodná pro děti s některými alergiemi na bílkovinu kravského mléka a s galaktozemií. Může být také alternativou pro dítě rodičů – veganů, které matka nechce kojit a podávat mu bílkovinu kravského mléka [20].

- Počáteční výživa s hydrolyzovanou bílkovinou (hypoalergenní)

Hypoalergenní přípravky s částečně hydrolyzovanou bílkovinou mají redukovanou alergenicitu [5,30]. Používají se k prevenci rozvoje alergického onemocnění u dětí, v jejichž rodinách se vyskytuje alergické onemocnění (např. astma či atopický ekzém). Pro děti s prokázanou alergií na bílkovinu kravského mléka, s malabsorpčním syndromem a některými metabolickými vadami se používají hypoalergenní přípravky pro léčebné užití s vysoce hydrolyzovanou bílkovinou [20].

- Mléka pro nedonošené děti a děti s nízkou porodní hmotností a přípravky k obohacení MM

Pro výroby kojenecké mléčné výživy pro nedonošené děti a děti s nízkou porodní hmotností je charakteristické vyšší množství energie ($80 \text{ kcal} \cdot 100 \text{ ml}^{-1}$) a zvýšené množství bílkovin v adaptované podobě v porovnání s mléky pro donošené děti. Obohacování MM je doporučováno dětem, které při výživě samotným MM neprospívají [5].

- Mléka se sníženým obsahem laktózy nebo bezlaktózové

Využívají se pro děti, které přechodně netolerují laktózu [20].

- Antirefluxní mléka

Antirefluxní mléka obsahují látky, které zvyšují viskozitu mléka v žaludku (škroby, guar, karob) a zabraňují tak ublinkávání kojenců [23].

1.2.2 Přechodné období

Příkrm se doporučuje začít podávat nejdříve na konci 4. měsíce a nejpozději na konci 6. měsíce. Je to v době, kdy samotné mléko již nekryje požadavky na energii a složení stravy, v době, kdy dítě obvykle přesáhne hmotnost 6000 g, je hladové po 8 – 10 kojení nebo po vypití více než 900 – 1000 ml mléka denně. Musí být pokryt především zvýšený požadavek na energii, bílkoviny, železo a zinek. Příkrm je zaváděn do jídelníčku v době, kdy dítě již dobře kontroluje pohyby hlavou, sedí s oporou a je schopno polykat ze lžičky i stravu, která není tekutá [5,6]. Příkrm se podává zásadně lžičkou [17].

1.2.2.1 Nemléčné příkrmy

Stále více je doporučována metoda třístupňového zavádění příkrmů. První týden (možno i déle) je podávána vždy jen jedna potravina, vždy tepelně upravená (vařená, dušená). V dalším týdnu je přidávána další potravina – nemléčný příkrm dítěte je dvousložkový, v následujícím týdnu je přidávána potravina třetí [31]. Jako první příkrm je doporučováno zeleninové pyré, většinou z mrkve. V průběhu jednoho měsíce je možné zařadit vícesložkové příkrmy, zeleninové a masozeleninové, např. zelenina s kuřetem, telecí maso se zeleninou a bramborem, maso s rýží. Maso je přidáváno postupně asi 6 krát týdně, 1 krát týdně je místo masa přidáván vaječný žloutek. Po masozeleninovém příkrmu lze do jídelníčku kojence zavést ovocné pyré, které se nepřislazuje a obsah sacharidů nesmí

přesáhnout 20 g.100 g⁻¹. Každý nový druh ovoce by měl být zaváděn do jídelníčku kojence s odstupem alespoň 3 – 4 dnů k snazšímu rozpoznání případné nesnášenlivosti. Ovocné pyré lze smíchat s neslazeným jogurtem (jedná se v podstatě o lehce stravitelné mléko). Naopak tvaroh není v 1. roce života doporučován k příliš časté konzumaci z důvodu vysokého obsahu bílkovin, avšak po 1. roce je již jeho zařazování do jídelníčku malých dětí vhodné [5,6,20].

1.2.2.2 Mléčné obilné kaše

Místo večerní dávky mléka jsou do stravy zaváděny mléčné obilné kaše a to v průběhu 5. měsíce (u uměle živěných dětí) nebo 7. měsíce (u kojených dětí). Do konce 6. měsíce musí být podávána kaše bez obsahu lepku. Komerčně připravená instantní mléčná kaše musí nést označení druhu obilniny, ze které je vyrobena a věk dítěte, od kterého ji lze podávat [5,6,20].

1.2.2.3 Pokračovací mléka

Jsou určena pro děti od ukončeného 4. měsíce do 36 měsíců [5,6]. Jedná se o sušená mléka obohacená vitaminy, železem, příp. mastnými kyselinami [21]. Jejich složení se podobá MM méně než složení počátečního mléka, nejsou tedy vhodná pro kojence v prvních měsících života [5,6]. Vyrábějí se pod stejnými názvy jako mléka počáteční mléčné výživy, jen jsou označována číslem 2 nebo slovem plus [20]. Neupravená, neadaptovaná mléka (nejčastěji kravské či kozi) nejsou v kojeneckém věku doporučována. Vyloženě nevhodná jsou mléka syrová či pasterovaná [21].

1.2.2.4 Nápoje pro kojence

Nekojené dítě potřebuje od 6. měsíce, kojené od 10. měsíce pravidelné doplňování tekutin [20]. Nejlepším nápojem pro kojence je čistá kojenecká voda, podávány jsou také ovocné čaje a bylinné nápoje [5,6,20]. Čaje a ovocné šťávy se nepřislažují (neměly by obsahovat více sacharidů než 15 g.100 ml⁻¹) [17]. Ovocné šťávy však nejsou nezbytné, neboť vitamin C je v dostatečném množství obsažen v MM a umělá kojenecká výživa je jím obohacována [5,6,20].

1.2.3 Období smíšené stravy

V tomto období je jídelníček kojence obohacován o další druhy příkrmů a začíná se podobat jídelníčku dospělého [5,6,20]. Do jídelníčku jsou zařazovány cereálie, těstoviny, brambory, ovoce, zelenina, maso, vaječný žloutek a mléčné výrobky. Mohou se též začít podávat luštěniny. Jídlo musí být měkké, nekořeněné a nesolené. Nevhodné jsou uzeniny, sladkosti, tučné maso, paštiky, majonézy a vaječný bílek. Příkrmy by měly být zařazovány ve formě větších kousků k podpoře kousání [32,33].

1.2.4 Výživa dětí po 1. roce života

Výživa dětí po 1. roce života by se měla skládat z pěti denních dávek (tři jídla hlavní a dvě jídla vedlejší). Součástí každodenního jídelníčku by měly být následující základní zdroje živin: mléčné výrobky, maso, ryby, drůbež, vejce, luštěniny, zelenina, ovoce a cereálie [6,17]. Pro dítě od jednoho roku do dvou let není vhodné zásadním způsobem omezovat konzumaci lipidů [6,34]. Dětem v prvních dvou letech života nemá být podáváno mléko se sníženým obsahem lipidů a množství vypitého mléka by nemělo být u takto starých dětí menší než $500 \text{ ml} \cdot \text{den}^{-1}$ [5,6,34]. Děti v tomto věku by měly denně vypít 1200 – 1500 ml tekutin ve formě minerální vody, neslazeného bylinkového či ovocného čaje. V případě podávání ovocných šťáv se z důvodu vysokého obsahu cukru doporučuje ředění vodou, minerální vodou nebo slabým čajem min. v poměru 1:1 [32,33]. Používání soli má být omezené, stejně jako pití různých limonád a konzumace cukrovinek [6]. Speciální potraviny pro malé děti ve věku 1 – 3 roky (různá mléka, menu a sušenky) nejsou z výživově fyziologického hlediska nezbytné. Velmi důležitá je zásada optimální vyvážené stravy [5].

2 PŘÍJEM ŽIVIN V KOJENECKÉM A DĚTSKÉM VĚKU

Výživová hodnota potravy je dána obsahem energie a šesti druhů živin: bílkovin, lipidů, sacharidů, vitaminů, minerálních látek a vody [3]. Jenom malá část látek, které jsou v nich obsaženy, je životně nezbytných, např. esenciální AMK nebo mastné kyseliny, největší podíl slouží jako zdroj energie [35], což je jedna z nejdůležitějších funkcí základních živin [36].

2.1 Energie

Kojenci mají potřebu energie přibližně $80 - 120 \text{ kcal} = 334 - 500 \text{ kJ.kg}^{-1}.\text{den}^{-1}$ a energetický příjem klesá o $10,4 \text{ kcal} = 42 \text{ kJ}$ asi po 3 letech. V dětském věku je vysoká potřeba energie v období růstu a je tím vyšší, čím je rychlejší růst dítěte a nárůst tělesné hmoty – zvýšená potřeba energie je tedy u dětí s nízkou porodní hmotností, u novorozenců a kojenců. WHO udává přesné hodnoty energetického příjmu v kojeneckém věku (viz Tabulka 3) [17].

Tabulka 3 Předpokládaný energetický příjem podle WHO (měsíc.kJ¹(kcal¹).kg⁻¹)[17]

Věk	Energetický příjem	Věk	Energetický příjem
0,5	519,0 (124,0)	6 – 7	397,0 (95,0)
1 – 2	486,0 (116,0)	7 – 8	395,0 (94,5)
2 – 3	456,0 (109,0)	8 – 9	397,0 (95,0)
3 – 4	431,0 (103,0)	9 – 10	414,0 (99,0)
4 – 5	414,0 (99,0)	10 – 11	418,0 (100,0)
5 – 6	404,0 (96,5)	11 – 12	437,0 (104,5)

2.2 Bílkoviny

Bílkoviny (společně s lipidy a sacharidy) jsou u dětí důležitým činitelem růstu [37]. Blíže o nich bude pojednáno v kapitole 4. Význam bílkovin v kojenecké a dětské výživě.

2.3 Lipidy

Lipidy jsou ve stravě dítěte vysoce důležité [37], tvoří základní složku tělesných tkání, hlavně nervového systému a buněčných membrán. Představují hlavní zdroj energetických zásob v těle, zabezpečují transport vitaminů rozpustných v tucích (A, D, E, K) [17] a jsou nositelem chuťových a aromatických látek [35]. Největší část lipidů ve stravě kojeného i uměle živeného dítěte tvoří triacylglyceroly. Fosfolipidy, volné mastné kyseliny, monoacylglyceroly a diacylglyceroly tvoří asi 2 % přijímaných lipidů [38]. Normativy pro doporučený příjem lipidů v kojeneckém věku jsou následující: lipidy by měly tvořit 45 – 50 % celkového energetického příjmu u kojenců ve věku 0 – 3 měsíce a 35 – 45 % celkového energetického příjmu u kojenců ve věku 4 – 11 měsíců [39]. U dětí od jednoho roku by se příjem lipidů neměl snižovat pod 30 – 35 % celkového denního energetického příjmu, postupně by se však měly omezovat živočišné tuky a upřednostňovat tuky rostlinné, které obsahují pro organismus nezbytné nenasycené mastné kyseliny. Od dvou let by energetický podíl lipidů neměl přesahovat 30 % [34].

Kojenci mohou v prvních měsících života přijímat jen omezené množství potravy, proto musí mít jejich strava vysokou energetickou hodnotu, které lze docílit pouze zvýšeným podílem lipidů v potravě. Již v dětském věku však existuje úzký vztah mezi stavem výživy, hladinou krevních lipidů a vznikem počátečních změn na cévních stěnách. Nasyčené mastné kyseliny by proto neměly tvořit více než třetinu celkového příjmu lipidů, resp. 10 % energetického příjmu [39]. Přísun cholesterolu v potravě u kojených dětí činí cca $80 \text{ mg} \cdot 1000 \text{ kcal}^{-1}$ [38,39].

Mastné kyseliny

Mastné kyseliny plní v organismu různé funkce. Jedná se o základní stavební složky buněčných membrán [40]. Podle složení se dělí na nasycené a nenasycené s jednou či více dvojnými vazbami. V posledních 33 letech je věnována velká pozornost polynenasyceným mastným kyselinám s dlouhým řetězcem (LCPUFA) [41], které jsou syntetizovány z esenciálních mastných kyselin [42,43]. Podle umístění dvojných vazby na methylovém konci mastné kyseliny jsou definovány dvě základní řady, n-3 a n-6 [42]. Dvě nejvíce zkoumané mastné kyseliny jsou kyselina arachidonová (C 20:4, n-6) a dokosaheptaenová (C 22:6, n-3). Ačkoli tyto mastné kyseliny mohou být syntetizovány ze svých příslušných prekurzorů, linolové kyseliny (C 18:2, n-6) a α -linolenové kyseliny (C 18:3, n-3),

biosyntetická dráha u malých dětí není plně vyvinuta a pro udržení patřičných hladin v krvi a dalších tkáních organismu je nezbytné tyto kyseliny přijímat potravou [44]. Potřeba LCPUFA je v období růstu velmi vysoká, neboť mají pozoruhodný vliv na vizuální, motorický a kognitivní vývoj v dětském věku [35,44].

Doporučený příjem mastných kyselin (v % energie) pro kojence ve věku 0 – 3 měsíce je následující: 4,0 % kyseliny linolové a 0,5 % kyseliny α -linolenové, pro kojence ve věku 4 – 11 měsíců je to 3,5 % kyseliny linolové a 0,5 % kyseliny α -linolenové. U dětí ve věku 1 – 3 roky činí doporučený příjem kyseliny linolové 3 % energie a kyseliny α -linolenové 0,5 % energie. V případě kyseliny α -linolenové se jedná o odhadované hodnoty [35].

Plně kojené dítě přijímá denně přibližně 3,0 – 4,5 g kyseliny linolové [45]. Pro průmyslově vyráběnou počáteční kojeneckou výživu je mezinárodně doporučen obsah kyseliny linolové 300 – 1200 mg.100 kcal⁻¹ (což odpovídá 2,7 – 10,8 % obsahu energie). Minimální obsah kyseliny α -linolenové by měl být 50 mg.100 kcal⁻¹ (což odpovídá 0,45 % energetického obsahu). Poměr kyseliny linolové k α -linolenové v počáteční kojenecké výživě by měl být stejný jako v MM, tedy v rozmezí 5:1 až 15:1 [46].

2.4 Sacharidy, vláknina

Sacharidy představují důležitý zdroj energie kojenců [17,21]. V prvních šesti měsících života pokrývají sacharidy obsažené v MM cca 45 % energetické potřeby (48 % tvoří lipidy a 7 % bílkoviny). Převážnou část sacharidů v MM tvoří laktóza, zbytek komplexní oligosacharidy, jejichž význam není doposud přesně znám [47] (blíže viz kapitola 1.2.1.1 Přirozená výživa novorozence a kojence – kojení). Ve druhé polovině prvního roku života tvoří sacharidy cca 47 % celkového příjmu energie (40 % tvoří lipidy a 13 % bílkoviny). V současnosti nejsou k dispozici žádné normativy pro příjem vlákniny v kojeneckém věku. MM sice obsahuje oligosacharidy, ale žádnou vlákninu. Příjem vlákniny se postupně zvyšuje s příkrmováním z přibližně 1 g.MJ⁻¹, resp. ze 4 g.1000 kcal⁻¹ (v 5. – 6. měsíci života) na 2,4 g.MJ⁻¹, resp. na 10 g.1000 kcal⁻¹ (12. měsíc života) [35].

2.5 Vitaminy

Rostoucí dětský organismus má vyšší relativní potřebu vitaminů oproti dospělým [17].

2.5.1 Vitaminy rozpustné v tucích

Mezi vitaminy rozpustné v tucích jsou řazeny vitamin A (retinol), vitamin D (kalciferoly), vitamin E (tokoferoly a tokotrienoly) a vitamin K (fylochinony a farnochinony).

Vitamin A je pro dětský organizmus nezbytný [17], neboť má zásadní význam pro růst, funkci imunitního systému, pro vývoj buněk a různých druhů tkání [35]. Nedostatek vitamínu A způsobuje šeroslepost, patologické změny výstelky oční spojivky, poruchy růstu kostí a následně zpomalení celkového růstu a rohovatění kůže a sliznic [21,36,48]. Doporučený příjem vitamínu A pro kojence a malé děti je následující: ve věku 0 – 3 měsíce se doporučuje 0,5 mg ekvivalentu.den⁻¹, ve věku 4 měsíce až 3 roky doporučený příjem činí 0,6 mg ekvivalentu.den⁻¹.

Skupina vitamínu D se skládá z mnoha biologicky účinných látek označovaných jako kalciferoly. Doporučený příjem vitamínu D pro kojence ve věku 0 – 11 měsíců činí 10 µg.den⁻¹, pro děti ve věku 1 – 3 roky je 5 µg.den⁻¹[35]. Vitamin D je důležitý v metabolismu vápníku a fosforu, kde podporuje jejich vstřebávání a ukládání do kostí, čímž ovlivňuje celý proces růstu a osifikace [21]. Nedostatek vitamínu D se u kojenců a malých dětí projevuje klinicky jako rachitida [35,48].

V důsledku omezeného transportu tokoferolu z placenty k plodu mají novorozenci jen nepatrné zásoby vitamínu E. Mateřské mléko a průmyslově vyráběná kojenecká výživa však obsahují dostatek vitamínu E. Odhadované hodnoty pro přiměřený příjem vitamínu E u kojenců ve věku 0 – 3 měsíce činí 3 mg ekvivalentu.den⁻¹, u kojenců ve věku 4 – 11 měsíců je to 4 mg ekvivalentu.den⁻¹ a u malých dětí ve věku 1 – 3 roky tato hodnota činí 6 mg ekvivalentu.den⁻¹ [35]. Vitamin E má zejména antioxidační účinky, které oddalují proces stárnutí buněk a mají také vliv na vyzrání červených krvinek a pohlavních buněk [21]. Nedostatek se projevuje svalovými a nervovými poruchami a odumíráním jaterních buněk [36].

Vitamin K se podílí na reakcích vedoucích ke srážení krve a na správné funkci kostního metabolismu [34,48]. Odhadované hodnoty pro přiměřený příjem vitamínu K činí u kojenců ve věku 0 – 3 měsíce 4 µg.den⁻¹, u kojenců ve věku 4 – 11 měsíců je to 10 µg.den⁻¹ a u malých dětí ve věku 1 – 3 roky 15 µg.den⁻¹. Nedostatek vitamínu K (u novorozence prakticky avitaminóza v důsledku nedostatečného transportu vitamínu

K placentou [21,35]) vede ke krvácivým projevům, u novorozenců a malých kojenců dochází nezdřídka i ke krvácení do mozku [35,49].

2.5.2 Vitaminy rozpustné ve vodě

Do této skupiny vitaminů jsou řazeny vitaminy skupiny B: B₁ (tiamin), B₂ (riboflavin), B₃ (niacin, nikotinamid), B₅ (kyselina pantotenová), B₆ (pyridoxin), B₉ (kyselina listová, folacin), B₁₂ (kobalamin), dále biotin (vitamin H) a vitamin C (kyselina askorbová).

Doporučený příjem tiaminu u kojenců ve věku 0 – 3 měsíce činí 0,2 mg.den⁻¹, ve věku 4 – 11 měsíců je to 0,4 mg.den⁻¹ a u malých dětí ve věku 1 – 3 roky je doporučená hodnota 0,6 mg.den⁻¹. Tiamin působí jako koenzym v důležitých reakcích energetického metabolismu, nedostatek způsobuje především poruchy metabolismu sacharidů [35]. Avitaminóza vede k onemocnění beri-beri [50], kdy dětská forma se objevuje u kojených dětí matek s nedostatkem tiaminu a projevuje se nechutí pít, zvracením, apatií a neklidem [35].

Riboflavin je stavebním kamenem koenzymů flavinadenindinukleotidu a flavinmononukleotidu, které hrají jako součásti dehydrogenáz a oxidáz klíčovou roli v oxidačním metabolismu [48]. Doporučený příjem u kojenců ve věku 0 – 3 měsíce činí 0,3 mg.den⁻¹, u kojenců ve věku 4 – 11 měsíců 0,4 mg.den⁻¹ a u malých dětí ve věku 1 – 3 roky 0,7 mg.den⁻¹ [35]. Při nedostatku se objevují poruchy růstu či záněty sliznice dutiny ústní a jazyka [17,51].

Niacin je součástí koenzymů mnoha dehydrogenáz [21,48]. Pro kojence ve věku 0 – 3 měsíce činí doporučený příjem niacinu 2 mg ekvivalentu.den⁻¹, u kojenců ve věku 4 – 11 měsíců je to 5 mg ekvivalentu.den⁻¹ a u malých dětí ve věku 1 – 3 roky se doporučuje 7 mg ekvivalentu niacinu.den⁻¹ [35]. Mírný nedostatek se projevuje poškozením kůže a sliznic [50], avitaminóza v podobě onemocnění pelagra se v našich podmínkách prakticky nevyskytuje [17,21].

Kyselina pantotenová je nezbytná pro organismus [51], neboť má centrální význam v intermediálním metabolismu jako esenciální součást koenzymu A [48]. Odhadované hodnoty pro přiměřený příjem u kojenců ve věku 0 – 3 měsíce činí 2 mg.den⁻¹, u kojenců ve věku 4 – 11 měsíců 3 mg.den⁻¹ a u malých dětí ve věku 1 – 3 roky se odhaduje hodnota

na 4 mg.den⁻¹. Plně kojené dítě obdrží ze 750 ml MM cca 1,6 mg kyseliny pantotenové [35].

Pyridoxin se zapojuje do metabolismu AMK a bílkovin, dále ovlivňuje imunitní reakce a podílí se na udržování správné hladiny glukózy v krvi [52]. Doporučený příjem pro kojence ve věku 0 – 3 měsíce činí 0,1 mg.den⁻¹, u kojenců ve věku 4 – 11 měsíců je tato hodnota 0,3 mg.den⁻¹ a u malých dětí ve věku 1 – 3 roky činí doporučený příjem 0,4 mg.den⁻¹ [35]. Nedostatek byl pozorován po krmení kojence mlékem sterilovaným v autoklávu, kdy tímto postupem se zničí více než polovina vitamínu B₆ [17].

Kyselina listová je nutná pro dělení buněk, pro krvetvorbu, dělení enterocytů a dalších rychle se dělících buněk. Ovlivňuje též vývoj plodu během prenatálního vývoje [53]. U kojenců ve věku 0 – 3 měsíce činí doporučený příjem kyseliny listové 60 µg ekvivalentu.den⁻¹, u kojenců ve věku 4 – 11 měsíců je to 80 µg ekvivalentu.den⁻¹ a u malých dětí ve věku 1 – 3 roky činí doporučený příjem 200 µg ekvivalentu.den⁻¹ [35].

Kobalamin hraje podstatnou roli v metabolismu kyseliny listové [17], podílí se na stavbě nukleových kyselin a je nezbytný pro zrání červených krvinek [21]. Jeho deficit způsobuje megaloblastickou anémii [49]. Kojené dítě využívá kobalamin obsažený v MM velmi dobře. Doporučený příjem pro kojence ve věku 0 – 3 měsíce je 0,4 µg.den⁻¹, pro kojence ve věku 4 – 11 měsíců 0,8 µg.den⁻¹ a pro malé děti ve věku 1 – 3 roky činí doporučený příjem kobalaminu 1 µg.den⁻¹ [35].

Biotin se uplatňuje jako koenzym karboxyláz, které mají klíčové postavení při glukoneogenezi, při odbourávání čtyř esenciálních AMK (metionin, izoleucin, treonin, valin) a při biosyntéze mastných kyselin. Nedostatek se u kojenců projevuje špatným prospíváním [35,54]. Odhadované hodnoty pro přiměřený příjem biotinu u kojenců ve věku 0 – 3 měsíce jsou 5 µg.den⁻¹, u kojenců ve věku 4 – 11 měsíců 5 – 10 µg.den⁻¹ a u malých dětí ve věku 1 – 3 roky 10 – 15 µg.den⁻¹ [35].

Vitamin C je pro život nezbytný, vytváří redoxní systém, který se v buněčném metabolismu významně uplatňuje na mnoha místech [50]. Doporučený příjem vitamínu C u kojenců ve věku 0 – 3 měsíce činí 50 mg.den⁻¹, u kojenců ve věku 4 – 11 měsíců 55 mg.den⁻¹ a u malých dětí ve věku 1 – 3 roky 60 mg.den⁻¹ [35]. V MM je obvykle dostatečné množství vitamínu C, kolísá však v závislosti na příjmu vitamínu C matkou [17]. Klasickým deficitem vitamínu C je u kojenců Moeller-Barlowova choroba,

kteřá se projevuje především poruchou tvorby kostí a růstu, v pozdějším věku sklonem ke krvácení do kůže, sliznic, svalů a do vnitřních orgánů. V rozvinutých zemích k takovému nedostatku již prakticky nedochází [51].

2.6 Minerální látky a stopové prvky

Minerální látky představují základní anorganickou součást tělesných tekutin a charakterizují vnitřní prostředí organismu. V kojeneckém a dětském věku je velmi důležitý příjem sodíku, draslíku, chlóru, vápníku, fosforu, hořčíku, ale i dalších minerálních látek [17].

Sodík je nejdůležitějším kationtem extracelulární tekutiny, určuje její objem a osmotický tlak [35,48,55] a jeho metabolismus úzce souvisí s metabolismem chloridů a vody [17].

Draslík je základním intracelulárním kationtem nezbytným pro stavbu tělesných tkání, účastní se na řízení nervosvalové dráždivosti a acidobazické rovnováhy [21,48,55].

Chlór ve formě chloridů je nečastějším aniontem v extracelulární tekutině, vysoké koncentrace se nachází v mozkomíšním moku a v trávicích sekretech [17,35].

V kojenecké výživě by se mělo dbát na poměr sodíku a draslíku. MM obsahuje v 1 litru 6 mmol sodíku, 12 mmol draslíku a 11,3 mmol chloridů, poměr mezi součtem koncentrací kationtů a chloridů je 1,6. Umělá kojenecká výživa by se měla řídit složením MM a poměr těchto iontů by měl být min. 1,5 [35].

Ionty vápníku jsou nezbytné pro život každé buňky, plní důležité funkce při stabilizaci buněčných membrán, společně s fosforem jsou nezbytnou součástí skeletu [21]. Organické sloučeniny fosforu jsou součástí buněčných membrán a nukleových kyselin, které se vyskytují ve všech živých buňkách.

Hořčík je čtvrtým nejčastějším kationtem v lidském organismu [35]. Největší část se vyskytuje ve skeletu a ve svalovině [21].

Mezi stopové prvky významné v kojenecké a dětské výživě jsou řazeny jód, železo a zinek [40]. Tyto prvky působí jako kofaktory enzymatických reakcí [17].

Z výživového hlediska je jód nezbytný pro syntézu hormonů štítné žlázy [40,56]. Tyto hormony ovlivňují látkovou výměnu ve všech buňkách těla, zajišťují normální růst a vývoj všech tkání a orgánů a důležité životní funkce [56]. Nedostatek jódu koncem první třetiny

a začátkem druhé třetiny těhotenství může mít za následek endemickou strumu a endemický kretenizmus [40].

Železo je důležitou součástí organických látek, které přenáší kyslík a elektrony (hemoglobin, myoglobin, různé enzymy, např. cytochromy) [35]. Nedostatek železa omezuje tělesnou výkonnost, oslabuje imunitní systém, způsobuje problémy s pamětí a pozorností, a pokud se nedostatek železa vyskytne v prvních letech života, problémy s tímto spojené mohou přetrvávat i v pozdějším věku, kdy je již příjem železa dostatečný [40].

Zinek je součástí či aktivátorem mnoha enzymů, které se podílí na metabolismu bílkovin, sacharidů, lipidů, nukleových kyselin, hormonů a receptorů, podílí se na působení inzulínu a hraje roli v imunitním systému [35,55].

Odhadované hodnoty pro minimální příjem a hodnoty pro doporučený příjem minerálních látek a stopových prvků v kojeneckém a dětském věku jsou uvedeny v Tabulce 4.

Tabulka 4 Odhadované hodnoty pro minimální příjem¹ a hodnoty pro doporučený příjem² minerálních látek a stopových prvků v kojeneckém a dětském věku [35]

	Věk		
	Kojenci		Děti
	0 – 3 měsíce	4 – 11 měsíců	1 – 3 roky
Sodík ¹ [mg.den ⁻¹]	100,0	180,0	300,0
Draslík ¹ [mg.den ⁻¹]	400,0	650,0	1000,0
Chloridy ¹ [mg.den ⁻¹]	200,0	270,0	450,0
Vápník ² [mg.den ⁻¹]	220,0	400,0	600,0
Fosfor ² [mg.den ⁻¹]	120,0	300,0	500,0
Hořčík ² [mg.den ⁻¹]	24,0	60,0	80,0
Jód ² [μg.den ⁻¹]	50,0	50,0	90,0
Železo ² [mg.den ⁻¹]	0,5	8,0	8,0
Zinek ² [mg.den ⁻¹]	1,0	2,0	3,0

3 LEGISLATIVA TÝKAJÍCÍ SE KOJENECKÉ A DĚTSKÉ VÝŽIVY

Smyslem legislativních opatření, týkajících se výroby a uvádění potravin na trh, je ochrana spotřebitele před zdravotními riziky a ekonomickou újmou. V případě výživy kojenců a malých dětí je k tomu přidávána i snaha o dosažení maximální shody výživy s výživovými potřebami, tedy zajištění nutriční jakosti kojenecké a dětské výživy [1], neboť kojenci a děti do tří let věku jsou vnímáni jako citlivá skupina konzumentů. Z těchto důvodů jsou na kojeneckou a dětskou výživu kladeny mimořádné legislativní požadavky, které pro tento typ výrobků vymezují široké spektrum sledovaných kritérií [57].

Jedná se o zákon č. 110/1997 Sb., o potravinách a tabákových výrobcích ve znění pozdějších předpisů a především o vyhlášku č. 54/2004 Sb., o potravinách určených pro zvláštní výživu a o způsobu jejich použití ve znění pozdějších předpisů (dále jen vyhláška č. 54/2004 Sb.) [1]. Tato vyhláška zapracovává příslušné předpisy EU (Směrnice Komise 2006/141/ES o počáteční a pokračovací kojenecké výživě) a upravuje požadavky na zdravotní nezávadnost potravin určených pro zvláštní výživu, jejich složení, označování a jejich použití [23,58].

Ve vyhlášce č. 54/2004 Sb. jsou kojenecké a dětské výživě věnovány dva oddíly, jedná se o:

- potraviny pro počáteční a pokračovací kojeneckou výživu a výživu malých dětí,
- potraviny pro obilnou (dále jen obilné příkrmy) a ostatní výživu jinou než obilnou (dále jen ostatní příkrmy) určenou pro výživu kojenců a malých dětí.

Dle vyhlášky č. 54/2004 Sb. se počáteční kojeneckou výživou rozumí potraviny určené pro zvláštní výživu kojenců od narození do šesti měsíců věku kojence, které odpovídají výživovým požadavkům této skupiny kojenců. Pokračovací kojeneckou výživou jsou potraviny určené pro zvláštní výživu kojenců starších šesti měsíců, které vytvářejí základní tekutý podíl postupně se rozšiřující tekuté stravy kojenců. Ovocná kojenecká a dětská výživa je dle této vyhlášky řazena do kategorie ostatních příkrmů, které definuje jako příkrmy nemléčného typu na bázi ovoce, zeleniny nebo masa, s možným přídavkem cukru, a dále je člení na:

- ovocné příkrmy (výživa, přesnídávka, pyré, dezert),

- ovocné příkrmy s jogurtem, tvarohem nebo jiným vhodným mléčným zakysaným výrobkem,
- ovocnoobilné příkrmy,
- zeleninové příkrmy a polévky,
- masozeleninové příkrmy a polévky,
- masové příkrmy,
- nápoje na ovocném, zeleninovém základě, nebo na základě jejich směsi a ovocné nebo zeleninové koncentráty [58].

Vyhláška č. 54/2004 Sb. předepisuje základní složení počáteční a pokračovací kojenecké výživy v rozsahu minimálního nebo maximálního obsahu energie a živin, přepočítaného na konečnou stravu poskytovanou kojenci. Jedná se o obsah bílkovin (při použití kravského mléka nebo hydrolyzovaných bílkovin nebo izolátů sójových bílkovin jako suroviny v přepočtu na referenční bílkovinu), povolené přísady taurinu a cholinu. U lipidů jsou uvedena povolená množství celkových lipidů, zákaz používání bavlníkového a sezamového oleje, omezení dávek kyseliny laurové, myristové a erukové a zejména *trans*-nenasycených mastných kyselin, dále je předepsán podíl kyseliny α -linolenové a povolen případný přídavek LCPUFA (kyseliny dokosaheptaenové a kyseliny eikosapentaenové) a fosfolipidů. U dávky sacharidů jsou uvedeny povolené sacharidy, dále je zde uvedeno všech 13 vitamínů a 12 minerálních látek se specifikací použitelných solí. Z potravinových doplňků je zde dále předepsán obsah 5 nukleotidů. Na všechny tyto látky jsou kladeny vysoké nároky na zdravotní nezávadnost z hlediska chemických i mikrobiálních rizik. Vyhláška dále upravuje i výživová tvrzení a podmínky pro jejich použití (viz Tabulka 5). Ze zdravotních tvrzení je povoleno uvádět odkaz na výrobky se sníženým rizikem kaseinových alergií, pokud jsou podloženy vědeckými studiemi [1,58].

V příloze 8 k vyhlášce č. 54/2004 Sb. jsou uvedeny požadavky na základní složení ostatních příkrmů, kdy sladké příkrmy, které uvádí v názvu výrobku mléčnou složku jako první nebo jedinou složku, musí obsahovat nejméně 2,2 g mléčných bílkovin.100 kcal⁻¹ [59].

Tabulka 5 Výživová tvrzení a podmínky jejich použití týkající se kojenecké výživy [23]

Výživová tvrzení vztažená k	Podmínky jejich použití
Laktóze	Laktóza je jediný přítomný sacharid
Nepřítomnosti laktózy	Obsah laktózy nepřesahuje 2,5 mg.100 kJ ⁻¹
Přídavku LCPUFA nebo rovnocennému tvrzení týkajícího se přídavku kyseliny dokosahexaenové	Obsah kyseliny dokosahexaenové představuje nejméně 0,2 % celkového obsahu mastných kyselin
Taurinu	Volitelně podle vyhlášky č. 54/2004 Sb.
Nukleotidům	
Fruktooligosacharidům a galaktooligosacharidům	Volitelně 0,8 g.100 ml ⁻¹ v poměru 9:1

Potraviny pro počáteční a pokračovací kojeneckou výživu a výživu malých dětí a obilné a ostatní příkrmy určené pro výživu kojenců a malých dětí mohou být uváděny na trh pouze za podmínek a se souhlasem Ministerstva zdravotnictví a jejich kontrolou se zabývá Státní zemědělská a potravinářská inspekce [60].

4 VÝZNAM BÍLKOVIN V KOJENECKÉ A DĚTSKÉ VÝŽIVĚ

Bílkoviny z potravy dodávají organismu AMK a další dusíkaté sloučeniny, které jsou potřebné pro tvorbu bílkovin tělu vlastních a dalších metabolicky aktivních látek. Biochemicky zdůvodněná je však pouze potřeba AMK. Přesto jsou doporučení udávána pro bílkoviny, protože je to jediný způsob, jak AMK zdravému organismu potravou dodat [35]. Analýza obrovského množství bílkovin z téměř všech myslitelných zdrojů ukázala, že všechny bílkoviny se skládají z 20 základních (tzv. kódovaných) AMK [61], z nichž je pro malé děti 10 esenciálních [62,63]: valin, leucin, izoleucin, treonin, fenylalanin, tryptofan, metionin, lyzin, arginin a histidin [17,63].

Biologická hodnota bílkovin z různých zdrojů není stejná. Obecně je biologická hodnota bílkovin živočišného původu vyšší než biologická hodnota bílkovin rostlinného původu, neboť živočišné bílkoviny obsahují esenciální AMK v příznivějším poměru bližším potřebám člověka, než je poměr esenciálních AMK u rostlinných bílkovin [63,64]. Příjem živočišných bílkovin je však spojen s vyšším příjmem lipidů, cholesterolu a s výjimkou vaječné a mléčné bílkoviny též s vyšším příjmem purinů [65]. Bílkovina je považována za plnohodnotnou, jestliže je poměr esenciálních a neesenciálních AMK z hlediska fyziologických potřeb člověka vyvážený [63]. Za plnohodnotné jsou pokládány bílkoviny mléka a vajec, za téměř plnohodnotné bílkoviny masa a za neplnohodnotné rostlinné bílkoviny [66]. AMK, které je přítomno vzhledem k denní potřebě člověka nejméně, je označována jako limitující a určuje výživovou hodnotu stravy [63,64].

Potřeba bílkovin je u rostoucího organismu podstatně vyšší než u dospělého jedince [21] a je dána potřebou pro zachování dusíkové bilance a pro růst organismu [64,67]. Podle různých studií je 52 – 64 % bílkovin v 1. měsíci života spotřebováno na růst, ve věku 9 – 12 měsíců je spotřebováno na růst již pouze 18 % celkové potřeby bílkovin. Potřeba bílkovin se tedy v průběhu kojeneckého období výrazně mění (viz Tabulka 6) a někdy je proto doporučováno udávat potřebu bílkovin ve vztahu k energetické potřebě [68]. Ve věku 2 – 5 let klesá podíl potřeby bílkovin na růst na 11 % z celkové potřeby bílkovin. U dětí byla určena potřeba bílkovin pro zachování dusíkové bilance a pro růst v hodnotě $0,63 \text{ g bílkovin} \cdot \text{kg}^{-1} \text{ tělesné hmotnosti} \cdot \text{den}^{-1}$ [67]. Současně se odhaduje, že se bílkoviny do ukončení 4. roku života podílí na celkovém energetickém příjmu 8 % [69].

*Tabulka 6 Doporučený příjem bílkovin v kojeneckém věku
[35,68]*

Věk [měsíce]	Bílkovina [g.kg⁻¹.den⁻¹]	Bílkovina [g.den⁻¹]
0 – 1	2,7	12,0
1 – 2	2,0	10,0
2 – 4	1,5	10,0
4 – 6	1,3	10,0
6 – 12	1,1	10,0

Nedostatek bílkovin v organismu nastává u dětí z mnoha příčin, např. nedostatečný obsah v potravě, nedostatečná chuť na jídlo, zvracení, porucha resorpce (průjmy), porucha syntézy bílkovin v játrech apod. Dlouhodobý nedostatek bílkovin se projevuje zpomalením růstu, zvýšenou náchylností k infekcím, sníženou hojivostí ran a snížením hladiny krevních bílkovin (hlavně albuminů) [17]. Bílkovinná podvýživa v našich podmínkách však není obvyklá a nejčastěji ohrožuje sekundárně děti s vážnějšími chorobami, které snižují proteosyntézu nebo zvyšují nároky na množství bílkoviny. Ve vyspělých zemích se lze spíše setkat se zvýšeným příjmem bílkovin, který ale také není především v kojeneckém věku bez rizik [68]. Se stoupajícím příjmem bílkovin se zvyšuje množství vylučovaných konečných produktů bílkovinného metabolismu [70], které představují pro kojence vysokou osmotickou zátěž, kterou nezralé ledviny obtížně vylučují. Dále zvýšený příjem bílkovin hrozí vyšším výskytem obezity, diabetu, poruchami intelektuálního vývoje, či postižením renálních funkcí [68], které mohou mít negativní vliv na bilanci vápníku a stav kostí [70,71]. Důkazy o škodlivém účinku vyššího příjmu bílkovin zatím nebyly experimentálně prokázány, nicméně na druhou stranu nebyly u nadměrného příjmu bílkovin zjištěny ani žádné pozitivní fyziologické účinky [72].

II. PRAKTICKÁ ČÁST

5 CÍL PRÁCE

Základním cílem diplomové práce bylo popsat vliv přídavku mléčné bílkoviny na zvýšení nutriční hodnoty ovocné kojenecké a dětské výživy. Dosažení tohoto cíle bylo realizováno naplněním následujících dílčích cílů:

- zpracování literární rešerše zabývající se obecně kojeneckou a dětskou výživou, rozdělením kojenecké a dětské výživy dle věku dítěte, příjmem živin v kojeneckém a dětském věku, legislativou týkající se kojenecké a dětské výživy a významem bílkovin v kojenecké a dětské výživě,
- stanovení základních chemických charakteristik (obsahu sušiny, popele, celkových dusíkatých látek, pH, titrační kyselosti a rozpustné sušiny refraktometricky) a obsahu AMK (metodou iontově-výměnné kapalinové chromatografie) u vybraných druhů ovocných kojeneckých a dětských výživ, porovnání biologické hodnoty bílkovin v těchto vybraných druzích ovocných kojeneckých a dětských výživ,
- statistické vyhodnocení získaných výsledků a diskuze s dostupnou literaturou.

6 METODIKA PRÁCE

6.1 Použité chemikálie, pomůcky a přístroje

6.1.1 Chemikálie

- kyselina sírová (LACHEMA)
- peroxid vodíku (LACHEMA)
- směsný katalyzátor ($\text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{CuSO}_4$, poměr 10:1) (Ing. Petr Lukeš)
- hydroxid sodný (LACHEMA)
- kyselina boritá (LACHEMA)
- indikátor Tashiro (LACHEMA)
- indikátor fenolftalein (etanolický 2% roztok) (LACHEMA)
- dihydrát kyseliny šťavelové (LACHEMA)
- CaCl_2 (20% roztok) (LACHEMA)
- kyselina chlorovodíková (Ing. Petr Lukeš)
- kyselina mravenčí (Ing. Petr Lukeš)
- sodnocitrátový pufr pH 2,2 (Ing. Petr Lukeš)
- ninhydrinové činidlo (ZMBD chemik)
- pufr pro stanovení AMK (INGOS)
- standardy AMK (INGOS)

6.1.2 Pomůcky a přístroje

- běžné laboratorní pomůcky a sklo
- analytické váhy Explorer Pro model EP 214 CM (OHAUS)
- předvážky KB 600-2 (KERN)
- mineralizátor Bloc Digest 12 (J. P. Selecta)
- automatická destilační jednotka Pro-Nitro 1430 (J. P. Selecta)

- tyčový mixér MR 6560 MCA (BRAUN)
- sušárna Venticell (BMT Medical Technology)
- muflová pec typ 018 LP (Elektické pece Svoboda)
- vpichový pH metr se skleněnou elektrodou GRYF 209S (GryfHB)
- digitální refraktometr HI 96801 (HANNA)
- hlubokomrazicí box MDF-U3286S (SANYO)
- lyofilizátor ALPHA 1-4 LSC (CHRIST)
- termoblok (EVATERM)
- olejová lázeň
- vakuová rotační odparka LABOROTA 4010 DIGITAL (INGOS)
- chladnička (GORENJE)
- automatický analyzátor aminokyselin AAA 400 (INGOS)

6.2 Charakteristika vzorků a popis experimentu

Základní chemické analýzy (obsah sušiny, popele, celkových dusíkatých látek, pH, titrační kyselost, rozpustná sušina refraktometricky) a následné stanovení obsahu AMK bylo provedeno u deseti vzorků ovocných kojeneckých a dětských výživ vyrobených společností Hamé, s.r.o. V první fázi experimentu bylo společností dodáno pět vzorků (1 – 5) ovocných kojeneckých a dětských výživ, bližší charakteristika těchto vzorků je uvedena v Tabulce 7. Záměrem společnosti bylo zvýšit nutriční hodnotu ovocných kojeneckých a dětských výživ přidávkem mléčné bílkoviny. Jednalo se o přidávek tvarohu (vzorky 1 – 3), jogurtu (vzorek 4) a smetany (vzorek 5). V případě vzorků 1, 4 a 5 se jednalo o kojenecké výživy běžně dostupné v obchodní síti. U vzorků 2 a 3 se jednalo o laboratorně vyrobené produkty, kdy do těchto vzorků bylo přidáno vyšší množství tvarohu, a to 30 % u vzorku 2 a 40 % u vzorku 3.

Tabulka 7 Charakteristika vzorků 1 – 5

Označení vzorku	1	2	3	4	5
Název	Kojenecká výživa/Ovocná přesnídávka s broskvemi a tvarohem	Kojenecká výživa/Ovocná přesnídávka s banány a tvarohem/Banánový dezert s tvarohem	Kojenecká výživa/Ovocná přesnídávka s malinami a tvarohem/Malinový dezert s tvarohem	Kojenecká výživa/Ovocná přesnídávka jablečná s jogurtem	Kojenecká výživa/Ovocná svačinka s meruňkami a smetanou
Složení	jablečná dřeň, voda, broskvová dřeň (20 %), cukr, fruktózový sirup (fruktóza, dextróza, maltóza), tvaroh (7 % hm.) , zahušťovadlo: kukuřičný modifikovaný škrob, regulátor kyselosti: kyselina citronová, antioxidant: kyselina askorbová, vitamin C. Obsahuje mléčný produkt.	jablečná dřeň, tvaroh (30 % hm.) , voda, banány (16 % hm.), cukr, fruktózový sirup (fruktóza, dextróza, maltóza), zahušťovadlo: kukuřičný modifikovaný škrob, antioxidant: kyselina askorbová, vitamin C. Obsahuje mléčný produkt.	jablečná dřeň, tvaroh (40 % hm.) , voda, malinová dřeň (10 % hm.), cukr, fruktózový sirup (fruktóza, dextróza, maltóza), zahušťovadlo: kukuřičný modifikovaný škrob, koncentrát z černé mrkve, antioxidant: kyselina askorbová, vitamin C. Obsahuje mléčný produkt	jablečná dřeň (50 %), voda, cukr, fruktózový sirup (fruktóza, dextróza, maltóza), jogurt (10 %) , zahušťovadlo: kukuřičný modifikovaný škrob, regulátor kyselosti: kyselina citronová, antioxidant: kyselina askorbová, vitamin C. Obsahuje mléčný produkt.	jablečná dřeň, voda, meruňková dřeň (20 %), cukr, fruktózový sirup (fruktóza, dextróza, maltóza), smetana 33 % (5 % hm.) , zahušťovadlo: kukuřičný modifikovaný škrob, regulátor kyselosti: kyselina citronová, antioxidant: kyselina askorbová, vitamin C. Obsahuje mléčný produkt.

Pokračování Tabulka 7

Označení vzorku	1	2	3	4	5
Použití od ukončeného	5. měsíce	12. měsíce	12. měsíce	4. měsíce	6. měsíce
Nutriční hodnoty					
Energie [KJ (kcal).100 g ⁻¹]	340,0 (81,1)	393,0 (94,0)	–	311,0 (74,2)	404,0 (96,0)
Bílkoviny [g.100 g ⁻¹]	1,6	6,1	–	0,5	0,4
Tuky [g.100 g ⁻¹]	0,1	0,2	–	0,3	1,7
Sacharidy [g.100 g ⁻¹]	18,2	17,6	–	17,2	19,7
Vitamin C [mg.100 g ⁻¹]	min. 10,0 (tj. 40 % referenční hodnoty pro kojence)	min. 10,0 (tj. 40 % referenční hodnoty pro kojence)	–	min. 10,0 (tj. 40 % referenční hodnoty pro kojence)	min. 10,0 (tj. 40 % referenční hodnoty pro kojence)

V průběhu provádění analýz společnost postupně zavedla i tyto laboratorní vzorky do výroby, pouze v případě vzorku 3 s přídavkem 40 % tvarohu uznala jeho příliš vysoké množství, které bylo sníženo na 30 %, jako je tomu u vzorku 2, a teprve tento produkt byl zaveden do výroby. Z tohoto důvodu nejsou u vzorku 3 v Tabulce 7 uvedeny nutriční hodnoty, neboť výrobové specifikace jsou sestavovány až pro výrobky, u nichž je rozhodnuto o jejich výrobě.

Ve druhé fázi experimentu společnost Hamé, s.r.o. dodala dalších 5 vzorků (vzorky 6 – 10), jejichž bližší charakteristiky jsou uvedeny v Tabulce 8. Jednalo se o dětské výživy od ukončeného 12. měsíce s přídavkem kombinace 30 % tvarohu a 5 % syrovátkové bílkoviny (vzorky 7 – 9) a 30 % tvarohu a 5 % kaseinátu vápenatého (vzorek 10). Vzorek 6 s 30 % tvarohu (bez přídavku další mléčné bílkoviny) byl použit jako referenční vzorek a je shodný se vzorkem 2 z předchozí pětice vzorků. Pro výrobu vzorků 7 – 10 byl jako základ použit vzorek 6. Do tohoto předeřátého produktu bylo dávkováno 5 % syrovátkové bílkoviny (blíže nespecifikovaná syrovátková bílkovina u vzorku 7, Lactomin 60 u vzorku 8 a Lactomin 80 u vzorku 9) a 5 % kaseinátu vápenatého (vzorek 10). S výjimkou vzorku 6 se ve všech případech jednalo o laboratorní výrobu. Syrovátkové bílkoviny Lactomin byly dodány společností Rovita; označení 60 (resp. 80) znamená, že produkt obsahuje minimálně 60 (resp. 80) % čistých syrovátkových bílkovin. Kaseinát vápenatý byl rovněž dodán společností Rovita (obsah čistých kaseinových bílkovin min. 88 %).

Tabulka 8 Charakteristika vzorků 6 – 10

Označení vzorku	Vzorek	Přídavek mléčných bílkovin
6	Kojenecká výživa banán tvaroh (30 %)	–
7	Kojenecká výživa banán tvaroh (30 %)	+ 5 % blíže nespecifikované syrovátkové bílkoviny
8	Kojenecká výživa banán tvaroh (30 %)	+ 5 % syrovátkové bílkoviny Lactomin 60
9	Kojenecká výživa banán tvaroh (30 %)	+ 5 % syrovátkové bílkoviny Lactomin 80
10	Kojenecká výživa banán tvaroh (30 %)	+ 5 % kaseinátu vápenatého

Vzorky k chemickým analýzám byly odebírány z původního neotevřeného obalu ze skla opatřeného bezpečnostním uzávěrem Twist-off (vzorky 1, 4 – 10) a plastu opatřeného uzávěrem z tepelně zažehlené hliníkové krycí fólie (vzorky 2 a 3). Před základními chemickými analýzami byly vzorky důkladně rozmixovány pomocí tyčového mixéru pro dosažení co nejvyšší homogenity vzorků a před vlastním stanovením AMK byly vzorky podrobeny lyofilizaci, kdy vzorky byly nejprve přes noc umístěny do mrazicího boxu při teplotě $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$ a poté vloženy do lyofilizátoru na dobu dvou dnů. Takto lyofilizované vzorky byly následně rozdrceny pomocí mixéru.

Na základě výsledků stanovení obsahu celkových dusíkatých látek a AMK bude společnost Hamé, s.r.o. zvažovat, zda je výhodné některý z inovovaných výrobků (vzorky 7 – 10) uvádět do výroby.

6.3 Základní chemické analýzy

6.3.1 Stanovení sušiny

Sušina ovocných kojeneckých a dětských výživ byla stanovena gravimetricky s nasávací hmotou (mořský písek) po dokonalém odpaření vlhkosti (vody) ze vzorků.

Jako sušina je označován pevný zbytek vzorku po odstranění vlhkosti [73,74]. Vyjadřuje se jako hmotnostní zlomek nebo v hmotnostních procentech. Za vlhkost jsou považovány látky těkající ze vzorku za podmínek metody [74,75].

Do hliníkových misek bylo naváženo cca 20 g mořského písku a byla přidána skleněná tyčinka. Misky s pískem a tyčinkou byly umístěny do předehřáté elektrické sušárny ($105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$) a sušeny po dobu jedné hodiny. Následně byly misky s pískem a tyčinkou vyjmuty, vloženy do exsikátoru a po vychladnutí zváženy na analytických vahách s přesností na 4 desetinná místa.

Do takto vysušených a zvážených misek s pískem a tyčinkou byly na analytických vahách naváženy 3 g vzorku s přesností na 4 desetinná místa. Pomocí skleněné tyčinky byl vzorek důkladně promíchán s pískem pro dosažení homogenity a vložen do sušárny vyhřáté na $105\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 3\text{ }^{\circ}\text{C}$. Po krátké době sušení (cca 35 minut) byly misky se vzorky vyjmuty, důkladně promíchány a vloženy zpět do sušárny, kde sušení probíhalo do konstantní hmotnosti (asi 3,5 hodiny). Poté byly misky se vzorky vytáhnuty, vloženy do exsikátoru

a po vychladnutí zváženy na analytických vahách. Následně byl proveden výpočet obsahu vlhkosti a sušiny v % hm. Stanovení bylo u každého vzorku provedeno 3 krát.

Obsah vlhkosti a sušiny v % hm. byl vypočítán dle vztahů (1) a (2):

$$W = \frac{m_2 - m_3}{m_2 - m_1} \cdot 100 \quad (1)$$

$$S = 100 - W \quad (2)$$

kde: W ... obsah vlhkosti [% hm.]

m_1 ... hmotnost misky s pískem, tyčinkou a víčkem [g]

m_2 ... hmotnost misky s pískem, tyčinkou, víčkem a vzorkem před sušením [g]

m_3 ... hmotnost misky s pískem, tyčinkou, víčkem a vzorkem po vysušení [g]

S ... obsah sušiny [% hm.]

6.3.2 Stanovení popele

Obsah popele představuje celkový zbytek minerálních látek po vyžhání vzorku při optimální teplotě (zpravidla 500 – 600 °C, někdy však až 900 °C) v muflové peci [73]. Množství popele je definováno jako soubor anorganických prvků a sloučenin, které zůstaly po spálení a vyžhání vzorku potravin [76] a je poté možné jej vypočítat zvážením zbytku vzorku [74].

Do předem vyžháných a zvážených porcelánových kelímků byl navážen 1 g vzorku s přesností na 4 desetinná místa. Kelímky se vzorky byly žháný při teplotě 550 °C po dobu 4 hodin. Po této době byl podíl látky zbylý po žhání po vychlazení zvážen a vyjádřen v % hm. U každého vzorku bylo stanovení provedeno 3 krát.

Obsah popele v % hm. byl vypočítán dle vztahu (3):

$$P = \frac{m_3 - m_1}{m_2} \cdot 100 \quad (3)$$

kde: P ... obsah popele [% hm.]

m_1 ... hmotnost prázdného vyžháného kelímku [g]

m_2 ... navážka vzorku [g]

m_3 ... hmotnost kelímku se vzorkem po vyžihání [g]

6.3.3 Stanovení pH

Pro stanovení pH (aktivní kyselosti) je využívána potenciometrická metoda. Elektrické napětí vzniklé mezi dvojicí vhodných elektrod (měřicí – indikační a srovnávací – referenční) ponořených do analyzovaného vzorku je přímo úměrné koncentraci vodíkových iontů (4) [77].

$$pH = -\log[H_3O^+] = -\log[H^+] \quad (4)$$

Při stanovení bylo postupováno dle ČSN ISO 1842 [78]. Měření bylo provedeno pomocí nakalibrovaného vpichového pH metru se skleněnou elektrodou při teplotě 20 °C. Měrná elektroda byla ostříknuta destilovanou vodou, osušena a ponořena do zkoumaného vzorku. Po proměření byla opět ostříknuta destilovanou vodou, osušena a byl nasazen ochranný kryt s uchovávacím roztokem zabraňujícím vysychání. Stanovení bylo u každého vzorku provedeno 3 krát.

6.3.4 Stanovení titrační kyselosti

Titrační (celková) kyselost je dána spotřebou odměrného roztoku NaOH o koncentraci 0,1 mol.dm⁻³ při neutralizaci analyzovaného vzorku na indikátor fenolftalein, který je využíván z důvodu neutralizace silné zásady slabou kyselinou. Vzniklé soli poté vykazují ve vodných roztocích vlivem hydrolyzy alkalickou reakci. Bod ekvivalence udávající konec titrace leží ve slabě alkalické oblasti (pH 8,3). U ovocných polotovarů a výrobků z ovoce je titrační kyselost vyjadřována v % nebo g kyseliny citronové.100 ml⁻¹ nebo g kyseliny citronové.100 g⁻¹ výrobku [77]. Při stanovení bylo postupováno dle ČSN ISO 750 [79].

Pro stanovení bylo připraveno 250 ml odměrného roztoku NaOH o koncentraci 0,1 mol.dm⁻³ a byla provedena jeho standardizace na navážku diferenčně vypočítaného množství dihydrátu kyseliny šťavelové s použitím indikátoru Tashiro. Standardizace byla provedena 3 krát.

Poté bylo naváženo 25 g zhomogenizovaného vzorku, který byl kvantitativně převeden do 250 ml odměrné baňky a doplněn destilovanou vodou po rysku. Obsah baňky byl po důkladné homogenizaci a rozpuštění vzorku zfiltrován přes filtrační papír a z filtrátu bylo odebráno množství 25 ml do titrační baňky. K odměřenému množství filtrátu bylo

přidáno 0,25 – 0,50 ml indikátoru fenolftaleinu a za stálého míchání bylo titrováno odměrným roztokem NaOH do růžového zbarvení stálého 30 sec. U každého vzorku bylo stanovení provedeno 3 krát.

Titrační kyselost vyjádřená v % kyseliny citronové – monohydrátu (tedy v g kyseliny citronové – monohydrátu.100 g⁻¹) byla vypočítána dle vztahu (5):

$$TK = \frac{250.V_1.c.100.0,07}{m.V_0} \quad (5)$$

kde: TK ... titrační kyselost [%]

m ... navážka analyzovaného vzorku [g]

V₀ ... objem alikvotního podílu pipetovaného k filtraci [25 ml]

V₁ ... spotřeba odměrného roztoku NaOH při titraci [ml]

c ... přesná koncentrace odměrného roztoku NaOH [mol.dm⁻³]

6.3.5 Stanovení rozpustné sušiny refraktometricky

Refraktometrické stanovení sušiny vychází ze vzájemné souvislosti mezi indexem lomu světla a koncentrací rozpustných látek v analyzovaném vzorku. Index lomu v cukerném roztoku je závislý na koncentraci roztoku, kterou lze na základě jeho změřené hodnoty stanovit. Koncentraci lze odečíst přímo v % hm. Před vlastním stanovením je nutné provést měření refraktometrické sušiny destilované vody pro případnou korekci [76,80]. Získané hodnoty refraktometrické sušiny udávají množství rozpustných látek ve vzorku, které odpovídají množství čisté sacharózy se stejným indexem lomu [81].

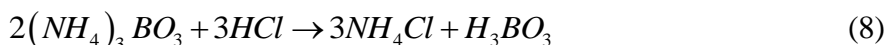
Stanovení bylo provedeno pomocí digitálního refraktometru, na displeji byla odečtena přímo hodnota refraktometrické sušiny v % hm. Stanovení bylo u každého vzorku provedeno 5 krát.

6.3.6 Stanovení celkového obsahu dusíkatých látek Kjeldahlovou metodou

Ke stanovení bílkovin v potravinách a potravinářských surovinách je nejčastěji využívána Kjeldahlova metoda založená na stanovení množství přítomného dusíku [77]. Celkový dusík je stanovován po mineralizaci mokrou cestou na amoniakální formu nadbytkem koncentrované kyseliny sírové [76,77,80]. Rozklad je urychlován přidávkem látek

zvyšujících teplotu varu kyseliny sírové (např. K_2SO_4), přidavkem oxidačních činidel (např. H_2O_2 , $KMnO_4$), katalyzátorů (např. Hg, HgO, CuO, Se, Se + $CuSO_4$, TiO_2 + $CuSO_4$, ZnO + $CuSO_4$, V_2O_5 – Weinigerův katalyzátor aj.) či působením speciálních směsí (K_2SO_4 + HgO) [73,76]. Kjeldahlovu metodu mineralizace však není možné použít pro některé formy dusíku (sloučeniny obsahující nitro a nitroso skupinu, např. dusičnany, dusitany, některé N-heterocykly), neboť se mineralizací nedají převést na amoniak a je nutné je nejprve redukovat na aminosloučeniny [76,82].

Dusíkaté látky, které jsou přítomny v bílkovinách nebo aminokyselinách ve formě amino nebo imino skupin, jsou mineralizací převedeny na amoniak, který je vázán na kyselinu sírovou jako síran amonný [73,77,82]. Ze síranu amonného je poté amoniak uvolněn přidavkem koncentrovaného roztoku hydroxidu sodného (6) a v destilačním přístroji je předestilován s vodní parou do roztoku kyseliny trihydrogenborité (7) [83]. Vzniklý boritan amonný je stanoven titračně odměrným roztokem kyseliny chlorovodíkové na indikátor Tashiro (8) [77].



Z množství spotřebované kyseliny chlorovodíkové je následně vypočítán obsah dusíku, který je přepočítán na obsah tzv. hrubé bílkoviny vynásobením korekčním faktorem 6,25. Hodnota tohoto faktoru vychází z předpokladu, že 100 g bílkoviny obsahuje přibližně 16 % dusíku ($100/16 = 6,25$) [77,82].

Do mineralizační zkumavky byl na analytických vahách s přesností na 4 desetinná místa na bezpopelový filtrační papír navážen 1 g vzorku. Ke vzorku bylo přidáno 10 ml koncentrované H_2SO_4 , 2 kapky H_2O_2 a 2 lžičky směsného katalyzátoru (Na_2SO_4 + $CuSO_4$ v poměru 10:1). Mineralizační zkumavky se vzorky byly umístěny do mineralizátoru Bloc Digest 12 s přídatným zařízením umožňujícím odsávání par vznikajících zplodin. Následně byl mineralizátor společně s pračkou plynů a digestoří zapnut. Teplota mineralizace byla nastavena na 400 °C a probíhala 60 minut od dosažení této teploty. Po ukončení mineralizace byly zkumavky ponechány zchladnout při zapnuté pračce plynů. Vzniknul čirý roztok světle zelené barvy, který byl do objemu 25 ml doplněn destilovanou

vodou. Pro stanovení celkového obsahu dusíkatých látek byla použita automatická destilační jednotka Pro-Nitro 1430. Do přístroje byla vložena zkumavka se zmineralizovaným vzorkem doplněným destilovanou vodou, do které byl automaticky dávkován přebytek 30% NaOH (cca 65 ml). Uvolněný amoniak byl predestilován s vodní parou a destilát byl jímán do roztoku kyseliny trihydrogenborité s přidavkem indikátoru Tashiro. Vzniklý boritan amonný byl automaticky titrován odměrným roztokem $0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ HCl do růžovofialového zbarvení. Po ukončení analýzy bylo na displeji přístroje odečteno množství spotřebované HCl a obsah dusíku v mg. Stanovení bylo u každého vzorku provedeno 3 krát. Z důvodu navážky vzorku na filtrační papír byl proveden slepý pokus s tímto filtračním papírem a následná spotřeba HCl byla odečtena od spotřeb HCl při vlastním stanovení vzorků.

Obsah hrubé bílkoviny v % hm. byl vypočítán dle vztahu (9):

$$HB = \frac{N}{n} \cdot 100 \cdot F \quad (9)$$

kde: HB ... obsah hrubé bílkoviny [% hm.]

N ... obsah dusíku [mg]

n ... navážka vzorku [mg]

F ... přepočítávací faktor (6,25)

6.4 Stanovení obsahu aminokyselin

Analýza aminokyselinového složení bílkovin je klasickou analytickou metodou, která nachází široké uplatnění v lékařském a potravinářském výzkumu [83,84]. Stanovení aminokyselinového složení je možné využít ke zjištění nutriční hodnoty potravin, aminokyselinového složení bílkoviny, kontrole receptury výrobku či charakterizaci bílkovinné frakce nebo konkrétní bílkoviny, což je prvním krokem před určováním struktury bílkovin [85]. Skládá se ze dvou základních kroků, a to hydrolýzy bílkovin a následné chromatografické separace a detekce jednotlivých AMK [77,83,84]. Z peptidového řetězce bílkovin jsou tedy AMK uvolňovány hydrolýzou, která může probíhat v kyselém nebo alkalickém prostředí, popř. ve speciálních případech působením enzymů.

Kyselá hydrolyza probíhá za varu při přebytku vroucí HCl o koncentraci 6 mol.dm^{-3} při teplotě $100 - 115 \text{ }^\circ\text{C}$ po dobu $16 - 72$ hodin. Výhodou je, že během hydrolyzy nedochází k racemizaci směsi a L-konfigurace AMK zůstává zachována. Avšak dochází ke změnám některých AMK, jako jsou destrukce tryptofanu (zčásti také serinu a treoninu) a částečná oxidace sirmých AMK (cystein a metionin), asparagin a glutamin hydrolyzují na kyselinu asparagovou a glutamovou. Degradaci cysteinu a metioninu je možné zabránit tím, že před vlastní kyselou hydrolyzou se tyto sirmé AMK oxidací kyselinou peroxymetanovou (permravenčí) převedou na oxidační produkty, cystein na kyselinu cysteovou a metionin na metioninsulfon, které jsou již v kyselém prostředí stabilní.

Alkalická hydrolyza se využívá pro stanovení obsahu tryptofanu, který je v podmínkách kyselé hydrolyzy nestálý. Jako hydrolyzační činidlo je používán NaOH o koncentraci 4 mol.dm^{-3} (doba hydrolyzy 98 hodin, případně 48 hodin při teplotě $135 \text{ }^\circ\text{C}$), nasycený roztok $\text{Ba}(\text{OH})_2$ (teplota $110 \text{ }^\circ\text{C}$ po dobu $17 - 22$ hodin za vakua), případně LiOH o koncentraci 4 mol.dm^{-3} (teplota $110 \text{ }^\circ\text{C}$ po dobu 48 hodin za vakua). Při alkalické hydrolyze probíhá racemizace a dochází k rozkladu argininu, cysteinu a částečně i lyzinu [83,85].

Enzymová hydrolyza je šetrnější k labilním AMK, jako jsou např. asparagin a glutamin, avšak je méně účinná vzhledem k úzké specifitě využívaných enzymů [83]. Nejčastěji se využívají enzymy pepsin, papain, trypsin nebo jejich vzájemné kombinace [76,77].

V současné době je k dělení AMK po jejich uvolnění z peptidového řetězce nejčastěji využívána metoda střednětlaké iontově-výměnné kapalinové chromatografie (IEC) s postkolonovou derivatizací [86]. Celý proces dělení AMK a zaznamenávání výsledků probíhá na automatických analyzátorech aminokyselin [76]. Principem dělení směsi AMK při iontově-výměnné chromatografii je rozdíl v náboji jednotlivých AMK. Jako iontoměníče jsou využívány syntetické pryskyřice, které mají bazické (anexy – měniče aniontů) nebo kyselé (katexy – měniče kationtů) funkční skupiny. V případě dělení AMK se využívají katexy s negativním nábojem obsahující sulfoskupiny ($-\text{SO}_3\text{H}$) [87]. Při nízkém pH jsou na začátek kolony přiváděny AMK s kladným nábojem. Kolona je promývána mobilní fází (citrátové pufrý), která zvyšuje hodnotu pH a iontové síly, čímž je AMK převedena do svého izoelektrického bodu. Ionty AMK ztrácí přitažlivost k iontoměníči a jsou vymývány z kolony. K dosažení izoelektrických bodů AMK dochází v různých časových intervalech, díky čemuž je umožněna separace AMK [85,88]. Směs

neutrálních a kyselých AMK se dělí na sloupci silně kyselého katexu Amberlite IR-120 (8% roztok divinylbenzenu v sodném cyklu) elucí citrátovými pufrů o hodnotě pH 3,25 a 4,25. Bazické AMK se rozdělí na sloupci téhož ionexu elucí citrátovým pufrům o pH 5,28. Eluát je sbírán po 2 ml frakcích. Sloučeniny v eluátu jsou detekovány a stanoveny postkolonovou derivatizací ninhydrinem, kdy separované AMK vystupující z kolony reagují s tokem derivatizačního činidla [77,85]. Ninhydrin reaguje s molekulou AMK za vzniku tzv. Ruhemannova purpuru, jehož maximum absorbance je při 570 nm. AMK prolin a hydroxyprolin poskytují s ninhydrinem žluté produkty s maximem absorbance při 440 nm [86].

Pro zjištění celkového obsahu AMK byly vázané AMK ze vzorků uvolněny kyselou hydrolyzou. Sirné AMK cystein a metionin byly před kyselou hydrolyzou oxidovány směsí 85% kyseliny mravenčí a 30% peroxidu vodíku v poměru 9:1 a byly stanovovány jako kyselina cysteová a metioninsulfon. Bylo stanoveno sedm z osmi esenciálních AMK (valin, leucin, izoleucin, treonin, metionin, lyzin a fenylalanin). Tryptofan stanoven nebyl, neboť pro jeho separaci je nutná alkalická hydrolyza. Dále byly stanoveny semiesenciální AMK arginin a histidin a z neesenciálních AMK kyselina asparagová (suma s asparaginem), kyselina glutamová (suma s glutaminem), glycin, alanin, cystein, prolin, serin a tyrozin.

Ke stanovení bylo naváženo 0,1 g lyofilizovaného rozemletého vzorku s přesností na 4 desetinná místa. Ke vzorku bylo přidáno 15 ml $6 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ HCl a vzorek byl umístěn do termobloku, kde probíhala kyselá hydrolyza při teplotě 115 °C po dobu 23 hodin. Po ukončení hydrolyzy a vychladnutí byl vzorek umístěn do druhého dne do lednice (teplota $6 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$) a následně byl přefiltrován přes filtrační papír do odpařovací baňky. Kyselá hydrolyza každého vzorku byla provedena 3 krát.

Pro stanovení sirných AMK byl navážen 1 g lyofilizovaného rozemletého vzorku, ke kterému bylo přidáno 15 ml oxidační směsi a vzorek byl umístěn na 16 hodin do lednice (teplota $6 \text{ °C} \pm 1 \text{ °C}$). Následně byl k oxidovanému vzorku přidán cca 1 ml koncentrované HCl a po přibližně 15 minutách bylo přidáno 50 ml HCl o koncentraci $6 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$. Vzorek byl po nasazení zpětného chladiče umístěn do olejové lázně, kde probíhala oxidativně-kyselá hydrolyza při teplotě 118 °C po dobu 23 hodin. Po ukončení hydrolyzy byl obsah baňky kvantitativně převeden $0,1 \text{ mol} \cdot \text{dm}^{-3}$ HCl přes filtrační papír do 250 ml odměrné baňky, která byla do druhého dne umístěna do lednice. Z odměrné baňky byla odebrána

aliquotní část filtrátu (25 ml) do odpařovací baňky. Oxidativně-kyselá hydrolyza byla u každého vzorku provedena 2 krát.

Jak v případě kyselé, tak oxidativně-kyselá hydrolyza byla z hydrolyzovaných vzorků odpařena HCl na vakuové rotační odparce, sirupovitý odparek byl následně rozpuštěn v sodnocitrátovém pufru (pH 2,2) a kvantitativně převeden do 25 ml odměrné baňky. Následně byl vzorek přefiltrován přes 0,45 µm filtr do ependorfových zkumavek.

Uvolněné AMK byly analyzovány pomocí iontově-výměnné kapalinové chromatografie na automatickém analyzátoru aminokyselin AAA 400 s postkolonovou ninhydrinovou derivatizací a spektrofotometrickou detekcí při 440 nm (prolin) a 570 nm (ostatní AMK). Výsledky byly vyjádřeny v g.kg⁻¹ a v g.16 g N⁻¹. Stanovení každého vzorku pomocí IEC bylo provedeno 1 krát (n = 3 pro kyselou hydrolyzu, n = 2 pro oxidativně-kyselou hydrolyzu).

Pro porovnání biologické hodnoty bílkovin ve vzorcích bylo vypočítáno aminokyselinové (též chemické) skóre (AAS) (10) a index esenciálních aminokyselin (EAAI) (11).

$$AAS = \frac{100 \cdot A_i}{A_{Si}} \quad (10)$$

$$EAAI = \sqrt[n]{\frac{100 \cdot A_1}{A_{S1}}} \cdot \sqrt[n]{\frac{100 \cdot A_2}{A_{S2}}} \dots \sqrt[n]{\frac{100 \cdot A_n}{A_{Sn}}} \quad (11)$$

kde: A_i ... obsah dané esenciální AMK v testované bílkovině

A_{Si} ... obsah téže AMK ve standardní (referenční) bílkovině

Jako standardní bílkovina byla organizací FAO/WHO určena fiktivní bílkovina, která má zcela optimální složení esenciálních AMK. Hodnota AAS pro každou z nich je 100 %. Složení této bílkoviny je uvedeno v Tabulce 9 [66].

6.5 Statistické vyhodnocení výsledků

Výsledky základních chemických analýz a stanovení obsahu AMK byly podrobeny statistické analýze s použitím parametrického testu srovnávajícího střední hodnoty dvou nezávislých výběrů (Studentův t-test). Statistická hodnocení byla provedena pomocí programu StatK25 na hladině významnosti 5 %.

Tabulka 9 Obsah esenciálních AMK ve standardní bílkovině dle FAO/WHO (v g.16 g N⁻¹) [66]

Aminokyselina	Bílkovina FAO/WHO
Val	5,0
Leu	7,0
Ile	4,0
Met a Cys	3,5
Thr	4,0
Lys	5,4
Phe a Tyr	6,1
Trp	1,0

7 VÝSLEDKY PRÁCE A DISKUZE

7.1 Základní chemické analýzy

U vybraných druhů ovocných kojeneckých a dětských výživ byly stanoveny následující základní chemické charakteristiky: obsah sušiny, popele, celkových dusíkatých látek, pH, titrační kyselost a rozpustná sušina refraktometricky dle metodik uvedených v kapitole 6.3. Výsledky těchto základních chemických analýz jsou prezentovány v Tabulce 10 (vzorky 1 – 5) a v Tabulce 11 (vzorky 6 – 10). Označení jednotlivých vzorků je uvedeno v kapitole 6.2 (vzorky 1 – 5 v Tabulce 7 a vzorky 6 – 10 v Tabulce 8).

7.1.1 Stanovení celkového obsahu dusíkatých látek

Bílkoviny jsou nezbytnou složkou potravy, protože jako hlavní zdroj dusíku v potravě, kterého v průměru obsahují 16 % hmotnosti, přinášejí do organismu hmotu nezbytnou k výstavbě a obnově tkání [66]. Potřeba bílkovin v kojeneckém a dětském věku je uvedena v kapitole 4. Analýza celkového obsahu dusíkatých látek byla provedena Kjeldahlovou metodou za použití přepočítávacího faktoru 6,25. Celkový obsah dusíkatých látek se v analyzovaných vzorcích 1 – 5 pohyboval v rozmezí 0,24 – 4,43 %, kdy nejnižší obsah byl zaznamenán u vzorku 5 (meruňka smetana – 5 %) a nejvyšší u vzorku 3 (malina tvaroh – 40 %), což racionálně souvisí s vysokým obsahem tvarohu ($P < 0,05$). Dle přílohy 8 k vyhlášce č. 54/2004 Sb. sladké příkrmy, které uvádí v názvu výrobku mléčnou složku jako první nebo jedinou složku, musí obsahovat nejméně 2,2 g mléčných bílkovin.100 kcal⁻¹ [59]. Lze říci, že vzorek 2 banán tvaroh – 30 % tento požadavek s obsahem bílkovin 3,57 g.100 kcal⁻¹ splňuje, ostatní vzorky se nachází pod hranicí tohoto kritéria (vzorek 1 0,89 g.100 kcal⁻¹, vzorek 4 0,69 g.100 kcal⁻¹ a vzorek 5 0,25 g.100 kcal⁻¹). V případě vzorku 3 malina tvaroh – 40 % je velmi pravděpodobné, že tento vzorek požadavek legislativy také splňuje, avšak vzhledem k tomu, že se jednalo pouze o laboratorní zkoušku a výrobek pro firmu Hamé, s.r.o. není stěžejní, nutriční hodnoty u tohoto vzorku počítány nebyly. Dle autorů Čížková, Rajchl, Ševčík a Voldřich se obsah bílkovin u různých druhů ovocných výživ (bez přídavku mléčné bílkoviny) pohyboval v rozmezí 0,20 – 1,20 %, kdy nejvyšší obsah byl analyzován u ovocné výživy s přídavkem cereálií [57].

Tabulka 10 Výsledky stanovení dusíkatých látek, sušiny, popele, pH, titrační kyselosti a refraktometrické sušiny u vzorků 1 – 5

Vz. č.	Dusíkaté látky [% hm.]	Sušina [% hm.]	Popel [% hm.]	pH	Titrační kyselost [%]	Refraktometrická sušina [% hm.]
1	0,72 ± 0,050 ^a	18,44 ± 0,300 ^a	0,11 ± 0,050 ^a	3,72 ± 0,006 ^a	0,28 ± 0,008 ^a	18,20 ± 0,122 ^a
2	3,36 ± 0,052 ^b	20,04 ± 0,741 ^{b,c,d}	0,39 ± 0,011 ^{b,c}	4,36 ± 0,012 ^b	0,25 ± 0,000 ^b	17,90 ± 0,089 ^b
3	4,43 ± 0,053 ^c	20,25 ± 0,960 ^{c,e}	0,37 ± 0,023 ^c	4,59 ± 0,015 ^c	0,37 ± 0,008 ^c	18,10 ± 0,114 ^a
4	0,50 ± 0,037 ^d	17,92 ± 0,859 ^a	0,21 ± 0,033 ^{d,e}	3,59 ± 0,006 ^d	0,29 ± 0,008 ^a	18,30 ± 0,288 ^a
5	0,24 ± 0,009 ^e	20,15 ± 0,386 ^{d,e}	0,19 ± 0,097 ^{a,e}	3,75 ± 0,015 ^c	0,33 ± 0,008 ^d	18,50 ± 0,513 ^a

Pozn.: Výsledky jednotlivých analýz jsou uvedeny jako průměr ± SD. Průměrné hodnoty ve sloupcích se stejným horním indexem se statisticky neliší ($P \geq 0,05$), průměrné hodnoty s různým horním indexem se statisticky liší ($P < 0,05$).

Tabulka 11 Výsledky stanovení dusíkatých látek, sušiny, popele, pH, titrační kyselosti a refraktometrické sušiny u vzorků

6 – 10

Vz. č.	Dusíkaté látky [% hm.]	Sušina [% hm.]	Popel [% hm.]	pH	Titrační kyselost [%]	Refraktometrická sušina [% hm.]
6	3,35 ± 0,312 ^a	19,35 ± 0,246 ^a	0,36 ± 0,178 ^{a,b}	4,34 ± 0,050 ^a	0,28 ± 0,009 ^a	18,10 ± 0,394 ^a
7	7,81 ± 0,317 ^{b,d,e}	23,55 ± 0,519 ^{b,d}	0,29 ± 0,062 ^{a,b}	4,42 ± 0,021 ^{b,c}	0,31 ± 0,009 ^{b,c}	19,30 ± 0,164 ^{b,c}
8	5,39 ± 0,588 ^c	20,36 ± 4,617 ^{a,b,c,d}	0,23 ± 0,048 ^{a,b}	4,44 ± 0,006 ^c	0,32 ± 0,016 ^c	19,10 ± 0,361 ^c
9	7,70 ± 0,129 ^{d,e}	25,72 ± 0,928 ^c	0,20 ± 0,006 ^a	4,39 ± 0,006 ^a	0,37 ± 0,000 ^{d,e}	21,10 ± 0,164 ^d
10	7,35 ± 0,726 ^e	24,08 ± 0,439 ^d	0,22 ± 0,014 ^b	4,73 ± 0,015 ^d	0,35 ± 0,017 ^e	19,80 ± 0,141 ^e

Pozn.: Výsledky jednotlivých analýz jsou uvedeny jako průměr ± SD. Průměrné hodnoty ve sloupcích se stejným horním indexem se statisticky neliší ($P \geq 0,05$), průměrné hodnoty s různým horním indexem se statisticky liší ($P < 0,05$).

Autoři [89] stanovili obsah bílkovin v ovocné kojenecké výživě (příchuť hruška a banán) běžně dostupné ve španělské obchodní síti 0,678 %. Pokud bychom srovnali obsah bílkovin uvedený na obale výrobku (viz Tabulka 7) s hodnotami získanými analýzou obsahu bílkovin dle Kjehdala (viz Tabulka 10), je možné vidět značné rozdíly, s výjimkou vzorku 4 (jablko jogurt – 10 %), kdy se tyto hodnoty shodují (obsah bílkovin 0,50 %). V případě ostatních vzorků (1, 2, 5) jsou hodnoty získané výpočtem téměř dvojnásobné oproti hodnotám naměřeným. Tento patrný rozdíl lze přičítat tomu, že hodnoty uvedené na obale byly získány pouze na základě výpočtů bez předchozí analýzy vstupních surovin. Další možné faktory ovlivňující obsah bílkovin v ovocných kojeneckých a dětských výživách jsou uvedeny dále na str. 58.

Obsah bílkovin v analyzovaných dětských výživách s přídavkem 30 % tvarohu (vzorky 6 – 10) kolísal v závislosti na druhu další přidané mléčné bílkoviny: 5 % syrovátkové bílkoviny (blíže nespecifikovaná syrovátková bílkovina u vzorku 7, Lactomin 60 u vzorku 8 a Lactomin 80 u vzorku 9) a 5 % kaseinátu vápenatého (vzorek 10). Nejnižší obsah dusíkatých látek (3,35 %) byl stanoven u referenčního vzorku 6 (banán tvaroh – 30 % bez přídavku další mléčné bílkoviny). Tento vzorek splňuje obsahem bílkovin $3,56 \text{ g} \cdot 100 \text{ kcal}^{-1}$ požadavek uvedený v příloze 8 vyhlášky č. 54/2004 Sb. [59]. Průměrný obsah dusíkatých látek u vzorků s dalším přídavkem mléčné bílkoviny (7 – 10) činil přibližně 7,06 %. V případě těchto vzorků byl nejnižší obsah dusíkatých látek analyzován u vzorku s přídavkem 5 % syrovátkové bílkoviny Lactomin 60 (5,39 %), naopak nejvyšší obsah dusíkatých látek vykazoval vzorek s přídavkem 5 % blíže nespecifikované syrovátkové bílkoviny (7,81 %). Na základě výsledků analýzy lze konstatovat, že obsah dusíkatých látek ve vzorcích 7, 9 a 10 byl podobný ($P \geq 0,05$). Z výsledků analýzy je dále patrné, že vzorky 8 – 10 taktéž splňují obsahem bílkovin požadavek legislativy: vzorek 8 obsahoval $4,92 \text{ g} \text{ bílkovin} \cdot 100 \text{ kcal}^{-1}$, vzorek 9 $6,97 \text{ g} \text{ bílkovin} \cdot 100 \text{ kcal}^{-1}$ a vzorek 10 $6,89 \text{ g} \text{ bílkovin} \cdot 100 \text{ kcal}^{-1}$. U vzorku 7 nemohl být tento přepočet proveden z důvodu přídavku blíže nespecifikované syrovátkové bílkoviny, ale lze usuzovat, že vzorek by vzhledem k vysokému obsahu dusíkatých látek požadavek také splnil. Dle autorů Rada-Mendoza, Olano a Villamiel se obsah dusíkatých látek u ovocných kojeneckých výživ z různých druhů ovoce a jejich směsí pohyboval v rozmezí 0,25 – 0,91 % [90], kdy tento nižší obsah bílkovin než u námi analyzovaných vzorků souvisí s tím, že se nejednalo o ovocné výživy s přídavkem mléčné bílkoviny. Pokud porovnáme obsah bílkovin získaný výpočtem

(vzorek 6 6,1 %, vzorek 8 8,8 %, vzorek 9 9,8 % a vzorek 10 10,2 %) s hodnotami analyzovanými (viz Tabulka 11), je možné opět vidět značné rozdíly, které mohou být způsobeny různými faktory, a to zejména obsahem a složením použité ovocné složky, tvarohu a přidané syrovátkové bílkoviny, resp. kaseinátu vápenatého (může docházet ke kolísání obsahu bílkovin či sušiny). Dále má vliv také doba, po kterou je výrobek podroben sterilizačnímu zákroku. Tepelná sterilace slouží k usmrcení mikroorganismů a inaktivaci enzymů, ale ovlivňuje též všechny přítomné chemické sloučeniny, a lze proto očekávat průběh nejrůznějších reakcí [91]. Patří k nim zejména denaturace bílkovin syrovátky (již při teplotě 60 °C), kaseiny při sterilaci prakticky nedenaturují, avšak v určitém rozsahu dochází k defosforylaci (hydrolyze) fosfoserinu, proteolýze a agregaci molekul. Z nutričního hlediska je denaturace bílkovin žádoucí, neboť zvyšuje jejich výživovou hodnotu (denaturované bílkoviny jsou přístupnější trávicím enzymům) [66]. Během sterilace může docházet též k reakcím volných nebo vázaných AMK způsobujícím zánik nebo rekombinaci intra- a intermolekulových disulfidických vazeb a reakcím postranních aminokyselinových řetězců vedoucím ke vzniku izopeptidů nebo zesítěných bílkovin [91]. Snížení obsahu bílkovin, a tím pádem následně i AMK, může být v průběhu sterilace způsobeno taktéž reakcí redukujících sacharidů s aminosloučeninami, tj. Maillardovou reakcí [66,92], kdy laktóza (převažující sacharid mléka a mléčných výrobků), reaguje s bílkoviny syrovátky, což vede ke ztrátám lyzinu [66].

7.1.2 Stanovení sušiny

Sušina analyzovaných kojeneckých a dětských výživ byla stanovena vázkově s nasávací hmotou po dokonalém odpaření vody ze vzorků. Obsah sušiny u analyzovaných vzorků 1 – 5 byl stanoven v rozmezí 17,92 – 20,25 % hm. Nejvyšší průměrný obsah sušiny byl zjištěn u vzorku 3 (malina tvaroh – 40 %), což lze samozřejmě přičítat vysokému přídavku tvarohu, naopak nejnižší obsah sušiny byl vypočten u vzorku 4 (jablko jogurt – 10 %). Vyšší obsah sušiny vykazoval taktéž vzorek 2 (banán tvaroh – 30 %) a vzorek 5 (meruňka smetana – 5 %), což opět souvisí s přídavkem vyššího množství tvarohu a v případě vzorku 5 s přídavkem vysokotučné smetany (obsah tuku 33 % hm.). Lze konstatovat, že obsah sušiny ve vzorcích 2, 3 a 5 byl podobný ($P \geq 0,05$) a taktéž obsah sušiny ve vzorcích 1 a 4 byl srovnatelný ($P \geq 0,05$). Dle autorů Rada-Mendoza, Olano a Villamiel, kteří provedli analýzu obsahu sušiny u 18 vzorků ovocných kojeneckých výživ zakoupených v obchodní

síti ve Španělsku, se obsah sušiny analyzovaných vzorků pohyboval v rozmezí 15,50 – 28,00 % hm. [90].

U zkoumaných vzorků 6 – 10 byly zjištěny hodnoty sušiny v rozmezí 19,35 – 25,72 % hm. Nejnižší obsah sušiny byl zaznamenán u referenčního vzorku 6 (banán tvaroh – 30 %), což souvisí s tím, že nebyla přidána další mléčná bílkovina, nejvyšší obsah sušiny byl analyzován u vzorku banán tvaroh – 30 % s přídavkem 5 % syrovátkové bílkoviny Lactomin 80 ($P < 0,05$). Množství sušiny u různých druhů ovocných výživ se dle zdroje [57] pohybovalo v rozmezí 12,20 – 21,00 % hm., kdy nejnižší obsah sušiny byl analyzován u vzorku obsahujícího jako hlavní složky hrušky, jablka, banány a naopak nejvyšší množství sušiny bylo zaznamenáno u vzorku ze stejných surovin, avšak jiným zastoupením hlavních složek: banány s jablky a hruškou.

7.1.3 Stanovení popele

Obsah výživově, sensoricky a technologicky významných látek v ovocných kojeneckých a dětských výživách závisí zejména na obsahu a složení použitého ovoce, ale také na přidaných vitamínech a minerálních látkách, kdy velký vliv na obsah těchto látek má použitá technologie a to zvláště míra sterilace, tedy doba, po kterou je výrobek vystaven vlivu vysoké teploty [57]. Obsah minerálních látek (popele) byl stanoven žiháním vzorků v muflové peci při teplotě 550 °C. V první fázi experimentu byl nejvyšší obsah minerálních látek stanoven u vzorků 2 (0,39 % hm.) a 3 (0,37 % hm.) s vyšším přídavkem tvarohu ($P < 0,05$). Nejnižší obsah minerálií byl naproti tomu stanoven u vzorku 1 (broskev tvaroh – 7 %). Čížková stanovila u ovocných výživ značky Hamé následující množství popele: příchut' jablka 0,31 % hm. a příchut' borůvky 0,18 % hm. Z dalších druhů ovocných výživ byl nejnižší obsah popele stanoven u vzorku Hallo borůvky (0,12 % hm.) a nejvyšší u vzorku Hipp hrušky (0,45 % hm.) [93].

Průměrný obsah popele se u vzorků analyzovaných ve druhé fázi experimentu (6 – 10) pohyboval v rozmezí 0,20 – 0,36 % hm. Nejnižší obsah popele byl zjištěn u vzorku 9 (banán tvaroh – 30 % s přídavkem 5 % syrovátkové bílkoviny Lactomin 80), nejvyšší obsah minerálních látek byl určen u referenčního vzorku banán tvaroh – 30 % bez přídavku další mléčné bílkoviny. Obsah popelovin ve vzorcích 6, 7 a 8 byl srovnatelný ($P \geq 0,05$). Množství minerálních látek u různých druhů ovocných výživ dle autorů [57] kolísalo v rozmezí 0,19 % hm. (borůvka, jablko) až 0,57 % hm. (banány s jablky a hruškou).

7.1.4 Stanovení pH

Hodnota aktivní kyselosti (pH) byla stanovena pomocí vpichového pH metru se skleněnou elektrodou. Aktivní kyselost potraviny je základním kritériem pro stanovení výše teploty konzervačního zákroku sterilované potraviny, kdy z tohoto hlediska je možné rozdělit potraviny do tří skupin:

- potraviny technologicky kyselé (pH < 4),
- potraviny technologicky málo kyselé (pH 4 – 6,5),
- potraviny technologicky nekyselé (pH > 6,5).

V technologicky kyselých potravinách vegetují mikroorganismy (vegetativní formy kvasinek, plísní, nesporulující mikroorganismy), které hynou již při teplotách 60 – 100 °C během krátké doby. V technologicky málo kyselých a nekyselých potravinách se vyskytují rozmanité druhy sporulujících i nesporulujících mikroorganismů, k jejichž inaktivaci jsou nutné teploty nad 100 °C [94]. Hodnota pH u analyzovaných vzorků (1 – 5) byla stanovena v rozmezí 3,59 – 4,59 ($P < 0,05$), kdy nejnižší hodnota byla zaznamenána u vzorku 4 (jablko jogurt – 10 %) a nejvyšší hodnota u vzorku 3 (malina tvaroh – 40 %). Hodnota pH > 4 byla zaznamenána též u vzorku 2 (banán tvaroh – 30 %), což logicky vyplývá z přidavku vyššího množství tvarohu, který jako technologicky nekyselá potravina snižuje kyselost ovocných dětských výživ. Můžeme tedy říci, že v případě vzorků 1, 4 a 5 lze ke konzervaci použít teploty do 100 °C, zatímco ke konzervaci vzorků 2 a 3 je nutné použít teploty nad 100 °C. Dle zdroje [90] se hodnota pH u 18 analyzovaných vzorků ovocných kojeneckých výživ z různých druhů ovoce a jejich směsí pohybovala v rozmezí 3,71 – 4,38. Dle autorů [89] činila aktivní kyselost ovocné kojenecké výživy (příchuť hruška a banán) běžně dostupné ve španělské obchodní síti 3,96.

Hodnota aktivní kyselosti u analyzovaných vzorků 6 – 10 byla stanovena v rozmezí 4,34 – 4,73, kdy nejnižší hodnota pH byla zaznamenána u referenčního vzorku 6 (banán tvaroh – 30 %) a nejvyšší hodnota u vzorku 10 (banán tvaroh – 30 % s přidavkem 5 % kaseinátu vápenatého). U všech vzorků analyzovaných ve druhé fázi experimentu byla zjištěna hodnota pH > 4, z čehož vyplývá, že ke sterilaci musí být použity teploty nad 100 °C.

Lze říci, že aktivní kyselost vzorků 6, 9 a taktéž vzorků 7, 8 byla podobná ($P \geq 0,05$). Dle autorů Mesías-García, Guerra-Hernández a García-Villanova byly stanoveny u vzorků dětských ovocných výživ s přidavkem mléčné bílkoviny (mléko, čerstvý sýr) hodnoty pH v rozmezí 3,44 – 4,18 [95]. Hodnota aktivní kyselosti ovocných kojeneckých a dětských výživ závisí tedy nejen na kyselosti použitého ovoce, ale i na množství a druhu přidané mléčné bílkoviny.

7.1.5 Stanovení titrační kyselosti

Kyselost potravin lze vyjádřit taktéž pomocí titrační kyselosti, která je u výrobků z ovoce stanovována v % nebo g kyseliny citronové.100 ml⁻¹ nebo g kyseliny citronové.100 g⁻¹ výrobku. Dle výrobních specifikací se mají hodnoty titrační kyselosti ovocných kojeneckých a dětských výživ pohybovat v rozmezí 0,25 – 0,70 % [96], lze tedy konstatovat, že analyzované vzorky 1 – 5 tento požadavek splňují. Nejnižší hodnota titrační kyselosti (0,25 %) byla stanovena u vzorku 2 (banán tvaroh – 30 %), nejvyšší hodnota (0,37 %) u vzorku 3 (malina tvaroh – 40 %) ($P < 0,05$). Dle zdroje [93] hodnoty titrační kyselosti analyzovaných vzorků společnosti Hamé, s.r.o. také splňovaly parametry uvedené ve výrobních specifikacích (příchuť jablko 0,55 %, příchuť borůvky 0,34 %). Hodnoty titrační kyselosti u dalších analyzovaných vzorků ovocných výživ se dle Čížkové pohybovaly v rozmezí 0,22 % (Hipp švestky) až 0,46 % (Hami jablka) [93].

Výsledky stanovení titrační kyselosti analyzovaných vzorků 6 – 10 taktéž korespondují s údaji uvedenými ve výrobních specifikacích [96]. Hodnoty titrační kyselosti u zkoumaných vzorků kolísaly v rozmezí 0,28 – 0,37 %. Nejnižší hodnota titrační kyselosti (0,28 %) byla stanovena u referenčního vzorku 6 (banán tvaroh – 30 % bez přidavku další mléčné bílkoviny), nejvyšší hodnota (0,37 %) u vzorku 9 (banán tvaroh – 30 % s přidavkem 5 % syrovátkové bílkoviny Lactomin 80). Ze statistického hlediska jsou hodnoty titrační kyselosti u vzorků 7, 8 a vzorků 9, 10 podobné ($P \geq 0,05$).

7.1.6 Stanovení rozpustné sušiny refraktometricky

Stanovení refraktometrické sušiny bylo provedeno pomocí digitálního refraktometru, kdy naměřené hodnoty rozpustné sušiny udávají množství čisté sacharózy ve vzorku.

Získané hodnoty refraktometrické sušiny se u analyzovaných vzorků 1 – 5 pohybovaly v rozmezí 17,9 – 18,5 % hm., což odpovídá hodnotě uvedené ve výrobních specifikacích (refraktometrická sušina max. 19,9 % hm.) [96]. Na základě výsledků stanovení lze tvrdit, že obsah refraktometrické sušiny ve vzorcích 1, 3, 4 a 5 byl podobný ($P \geq 0,05$).

Naměřené hodnoty rozpustné sušiny u analyzovaných vzorků 6 – 10 kolísaly v rozmezí 18,1 – 21,1 % hm. Nejnižší hodnota (18,1 % hm.) byla naměřena u referenčního vzorku 6 (banán tvaroh – 30 % bez přídavku další mléčné bílkoviny), nejvyšší hodnota (21,1 % hm.) u vzorku 9 (banán tvaroh – 30 % s přídavkem 5 % syrovátkové bílkoviny Lactomin 80). Dle výrobních specifikací však smí být maximální hodnota rozpustné sušiny ve vzorcích ovocných dětských a kojeneckých výživ max. 19,9 % hm. [96], vzorek 9 tedy nesplňuje uvedený požadavek. Na základě výsledků analýzy lze tvrdit, že obsah refraktometrické sušiny ve vzorcích 7 (banán tvaroh – 30 % s přídavkem 5 % blíže nespecifikované syrovátkové bílkoviny) a 8 (banán tvaroh – 30 % s přídavkem 5 % syrovátkové bílkoviny Lactomin 60) byl srovnatelný ($P \geq 0,05$).

7.2 Stanovení obsahu aminokyselin

Obsah jednotlivých AMK u vybraných vzorků ovocných kojeneckých a dětských výživ byl analyzován pomocí iontově-výměnné kapalinové chromatografie na automatickém analyzátoru aminokyselin AAA 400 s postkolonovou ninhydrinovou derivatizací a spektrofotometrickou detekcí dle metodiky uvedené v kapitole 6.4. Výsledky analýzy obsahu AMK v g.kg^{-1} vzorků 1 – 5 jsou uvedeny v Tabulce 12. Údaje o obsahu AMK v g.16 g N^{-1} jsou pro srovnání předloženy v příloze P I (vzorky 1 – 5).

Analýzou obsahu AMK ve vybraných vzorcích ovocných kojeneckých a dětských výživ (vzorky 1 – 4) bylo zjištěno, že evidentně nejvyšší průměrný obsah v těchto analyzovaných vzorcích zaujímá kyselina glutamová, jejíž množství se pohybuje v rozmezí $0,711 \text{ g.kg}^{-1}$ (jablko jogurt – 10 %) až $7,505 \text{ g.kg}^{-1}$ (malina tvaroh – 40 %). Pouze v případě vzorku 5 (meruňka smetana – 5 %) byl nejvyšší obsah zaznamenán v případě kyseliny asparagové ($0,590 \text{ g.kg}^{-1}$), druhou nejvíce se vyskytující AMK byla u vzorku 5 stanovena kyselina glutamová s obsahem $0,289 \text{ g.kg}^{-1}$.

Tabulka 12 Obsah AMK (v g.kg⁻¹) ve vzorcích 1 – 5

Vzorek č.	1	2	3	4	5
	Obsah AMK				
Esenciální AMK					
Val	0,309 ± 0,008 ^a	1,696 ± 0,076 ^b	2,077 ± 0,068 ^c	0,213 ± 0,001 ^d	0,088 ± 0,001 ^e
Leu	0,517 ± 0,004 ^a	2,880 ± 0,145 ^b	3,580 ± 0,121 ^c	0,369 ± 0,003 ^d	0,145 ± 0,005 ^e
Ile	0,231 ± 0,001 ^a	1,281 ± 0,034 ^b	1,628 ± 0,056 ^c	0,172 ± 0,004 ^d	0,070 ± 0,003 ^e
Thr	0,241 ± 0,008 ^a	1,240 ± 0,050 ^b	1,561 ± 0,069 ^c	0,181 ± 0,006 ^d	0,086 ± 0,002 ^e
Met	0,173 ± 0,004 ^a	0,937 ± 0,018 ^b	1,336 ± 0,060 ^c	0,117 ± 0,006 ^d	0,041 ± 0,002 ^e
Lys	0,426 ± 0,007 ^a	2,351 ± 0,129 ^b	2,981 ± 0,115 ^c	0,309 ± 0,007 ^d	0,118 ± 0,005 ^e
Phe	0,277 ± 0,009 ^a	1,512 ± 0,051 ^b	1,837 ± 0,074 ^c	0,184 ± 0,006 ^d	0,072 ± 0,002 ^e
Semiesenciální AMK					
Arg	0,232 ± 0,004 ^a	1,201 ± 0,004 ^b	1,397 ± 0,052 ^c	0,163 ± 0,005 ^d	0,077 ± 0,003 ^e
His	0,174 ± 0,004 ^a	1,015 ± 0,002 ^{b,c}	1,085 ± 0,058 ^c	0,120 ± 0,007 ^d	0,051 ± 0,002 ^e
Neesenciální AMK					
Asp	0,878 ± 0,013 ^a	2,487 ± 0,143 ^b	3,117 ± 0,136 ^c	0,585 ± 0,029 ^{d,e}	0,590 ± 0,028 ^e
Glu	1,032 ± 0,033 ^a	5,863 ± 0,259 ^b	7,505 ± 0,379 ^c	0,711 ± 0,031 ^d	0,289 ± 0,009 ^e
Gly	0,137 ± 0,006 ^a	0,594 ± 0,026 ^b	0,702 ± 0,032 ^c	0,093 ± 0,004 ^d	0,059 ± 0,000 ^e
Ala	0,212 ± 0,009 ^a	0,979 ± 0,040 ^b	1,215 ± 0,043 ^c	0,151 ± 0,004 ^d	0,089 ± 0,002 ^e
Cys	0,055 ± 0,002 ^a	0,335 ± 0,017 ^b	0,435 ± 0,010 ^c	0,045 ± 0,000 ^d	0,036 ± 0,002 ^e
Pro	0,429 ± 0,019 ^a	3,082 ± 0,118 ^b	3,849 ± 0,125 ^c	0,337 ± 0,008 ^d	0,192 ± 0,008 ^e
Ser	0,320 ± 0,010 ^a	1,710 ± 0,053 ^b	2,151 ± 0,089 ^c	0,232 ± 0,008 ^d	0,110 ± 0,003 ^e

Pokračování Tabulka 12

Vzorek č.	1	2	3	4	5
	Obsah AMK				
Neesenciální AMK					
Tyr	0,236 ± 0,008 ^a	1,310 ± 0,070 ^{b,c}	1,435 ± 0,075 ^c	0,130 ± 0,003 ^d	0,060 ± 0,003 ^e

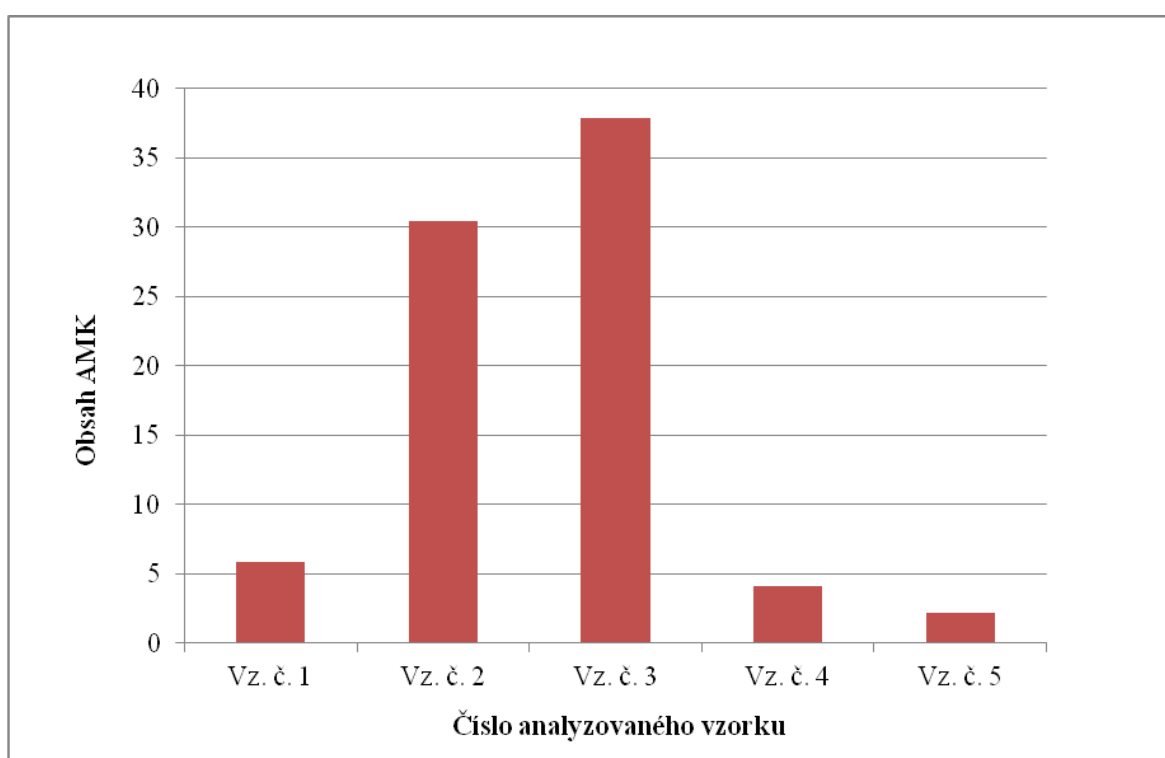
Pozn.: Obsah AMK je uveden jako průměr ± SD (n = 3, Cys a Met n = 2). Průměrné hodnoty v řádcích se stejným horním indexem se statisticky neliší ($P \geq 0,05$), průměrné hodnoty s různým horním indexem se statisticky liší ($P < 0,05$).

V případě druhé nejvíce zastoupené AMK se od sebe jednotlivé vzorky (1 – 4) lišily. U vzorků s vyšším přídatkem tvarohu byl druhou nejvíce přítomnou AMK prolin v množství $3,082 \text{ g.kg}^{-1}$ u vzorku 2 (banán tvaroh – 30 %) a $3,849 \text{ g.kg}^{-1}$ u vzorku 3 (malina tvaroh – 40 %) ($P < 0,05$). U vzorků 1 (broskev tvaroh – 7 %) a 4 (jablko jogurt – 10 %) se na pozici druhé nejvíce zastoupené AMK objevila kyselina asparagová v množství $0,878 \text{ g.kg}^{-1}$ u vzorku 1 a $0,585 \text{ g.kg}^{-1}$ v případě vzorku 4 ($P < 0,05$).

U všech analyzovaných vzorků (1 – 5) ovocných dětských a kojeneckých výživ byl limitující AMK shledán cystein, následovaný glycinem s výjimkou vzorku 5 (meruňka smetana – 5 %), u kterého byl glycin s obsahem $0,059 \text{ g.kg}^{-1}$ až třetí nejméně se vyskytující AMK (druhou limitující AMK byla analyzována semiesenciální AMK histidin v celkovém množství $0,051 \text{ g.kg}^{-1}$). Množství cysteinu v analyzovaných vzorcích kolísalo v rozmezí $0,036 \text{ g.kg}^{-1}$ (meruňka smetana – 5 %) až $0,435 \text{ g.kg}^{-1}$ (malina tvaroh – 40 %) a obsah glycinu (u vzorků 1 – 4) se pohyboval v rozmezí $0,093 \text{ g.kg}^{-1}$ (jablko jogurt – 10 %) až $0,702 \text{ g.kg}^{-1}$ (malina tvaroh – 40 %). Na základě výsledků analýzy obsahu AMK lze shledat, že vyšší množství jednotlivých AMK bylo ve všech případech stanoveno u vzorků s vyšším přídatkem tvarohu (vzorky 2 a 3). Při porovnání aminokyselinového složení vzorků s vyšším obsahem tvarohu (2 a 3) s aminokyselinovým složením samotného tvarohu byl zaregistrován následující shodný trend: nejvíce se vyskytující AMK v tvarohu je též kyselina glutamová následovaná prolinem, limitující AMK poté cystein následovaný glycinem (aminokyselinové složení tvarohu je na ukázkou uvedeno v příloze P II) [97]. Výrazně nižší obsah AMK u námi analyzovaných vzorků než v případě samotného tvarohu lze opět přičítat vlivům působícím při výrobě ovocných kojeneckých a dětských výživ (viz str. 58).

V 96,5 % případů byly u analyzovaných vzorků 1 – 5 u všech stanovovaných AMK zjištěny statisticky významné rozdíly ($P < 0,05$), pouze v případě AMK histidinu a tyrozinu lze konstatovat, že vzorky 2 (banán tvaroh – 30 %) a 3 (malina tvaroh – 40 %) jsou v obsahu těchto AMK srovnatelné ($P \geq 0,05$). Dále nebyl shledán významný rozdíl v množství kyseliny asparagové v případě vzorků 4 (jablko jogurt – 10 %) a 5 (meruňka smetana – 5 %) ($P \geq 0,05$).

Na Obrázku 1 je graficky znázorněn celkový obsah AMK v g.kg^{-1} u vzorků 1 – 5. Nejvyšší celkový obsah AMK byl stanoven u vzorků malina tvaroh – 40 % ($37,890 \text{ g.kg}^{-1}$) a banán tvaroh – 30 % ($30,473 \text{ g.kg}^{-1}$), což logicky souvisí s přidavkem vyššího množství tvarohu. V případě dalších analyzovaných vzorků byly celkové obsahy AMK výrazně nižší, a to $5,882 \text{ g.kg}^{-1}$ u vzorku broskev tvaroh – 7 %, $4,112 \text{ g.kg}^{-1}$ u vzorku jablko jogurt – 10 % a úplně nejnižší množství AMK bylo analyzováno ve vzorku meruňka smetana – 5 % ($2,175 \text{ g.kg}^{-1}$), což souvisí s množstvím a druhem přidané mléčné bílkoviny.



Obrázek 1 Celkový obsah AMK (v g.kg^{-1}) ve vzorcích 1 – 5

V Tabulce 13 jsou prezentovány výsledky analýzy obsahu AMK v g.kg^{-1} ve vzorcích 6 – 10. Hodnoty udávající obsah AMK v g.16 g N^{-1} ve vzorcích 6 – 10 jsou pro srovnání uvedeny v příloze P III. Analýzou druhé sady testovaných vzorků (6 – 10) bylo zaznamenáno, že prokazatelně nejvyšší průměrný obsah v ovocných dětských výživách s přidavkem mléčné bílkoviny zaujímá kyselina glutamová.

Její obsah v analyzovaných vzorcích kolísal v rozmezí $5,098 \text{ g.kg}^{-1}$ (banán tvaroh – 30 %) až $15,226 \text{ g.kg}^{-1}$ (banán tvaroh – 30 % s přidavkem 5 % kaseinátu vápenatého). Vzorky 6 (banán tvaroh – 30 %) a 8 (banán tvaroh – 30 % s přidavkem 5 % syrovátkové bílkoviny Lactomin 60) se od sebe v množství kyseliny glutamové výrazně nelišily ($P \geq 0,05$).

Na pozici druhé nejvíce se vyskytující AMK se u vzorků banán tvaroh – 30 % a banán tvaroh – 30 % s přidavkem 5 % kaseinátu vápenatého umístila AMK prolin v množství $2,998 \text{ g.kg}^{-1}$ (vzorek 6) a $6,930 \text{ g.kg}^{-1}$ (vzorek 10). Literatura udává, že zcela dominantní AMK v tvarohu je kyselina glutamová následovaná prolinem [97]. Autoři Rutherford a Moughan uvádí, že nejčastěji zastoupenou AMK v kaseinátu vápenatém je kyselina glutamová a jako druhou nejhojněji zastoupenou AMK udávají leucin [98]. Esenciální AMK leucin se v případě analyzovaných vzorků 6 – 10 vyskytovala na pozici třetí nejhojněji zastoupené AMK v rozmezí $2,797 \text{ g.kg}^{-1}$ (vzorek 6) až $6,266 \text{ g.kg}^{-1}$ (vzorek 10). U vzorků s přidavkem 5 % syrovátkové bílkoviny (7 – 9) se na pozici druhé nejčastěji zastoupené AMK vykytovala kyselina asparagová s obsahem $3,557 \text{ g.kg}^{-1}$ (banán tvaroh – 30 % s přidavkem 5 % syrovátkové bílkoviny Lactomin 60) až $5,327 \text{ g.kg}^{-1}$ (banán tvaroh – 30 % s přidavkem 5 % syrovátkové bílkoviny Lactomin 80). V literatuře lze nalézt, že naprosto dominantní AMK v sušené syrovátce je kyselina glutamová, na pozici druhé nejhojněji se vyskytující AMK se střídají kyselina asparagová a leucin u sušené syrovátky získané kyselým srážením, v případě sušené syrovátky získané sladkým srážením též lyzin [99,100]. V obsahu esenciální AMK lyzin byl u analyzovaných vzorků zaznamenán nejvýraznější rozdíl ($P < 0,05$). Dle zdroje [98] byla jako dominantní AMK v koncentrátu syrovátkových bílkovin stanovena kyselina glutamová následovaná kyselinou asparagovou, což s našimi výsledky koresponduje.

K aminokyselinám, které se v analyzovaných vzorcích vyskytovaly v nejnižším množství, patřily následující: cystein, glycin a semiesenciální AMK arginin a histidin.

U vzorků banán tvaroh – 30 % a banán tvaroh – 30 % s přidavkem 5 % kaseinátu vápenatého byl limitující AMK shledán cystein následovaný glycinem, kdy tyto dvě AMK udává v případě tvarohu a kaseinátu vápenatého jako limitující také literatura [97,98]. V případě vzorku banán tvaroh – 30 % s přidavkem 5 % blíže nespecifikované syrovátkové bílkoviny byl limitující AMK stanoven cystein, druhý nejnižší obsah zaujímala semiesenciální AMK arginin.

Tabulka 13 Obsah AMK (v g.kg⁻¹) ve vzorcích 6 – 10

Vzorek č.	6	7	8	9	10
	Obsah AMK				
Esenciální AMK					
Val	1,725 ± 0,105 ^a	1,947 ± 0,065 ^b	1,473 ± 0,054 ^c	2,219 ± 0,126 ^{a,b}	4,141 ± 0,250 ^d
Leu	2,797 ± 0,252 ^a	3,895 ± 0,149 ^b	2,948 ± 0,153 ^a	4,492 ± 0,215 ^c	6,266 ± 0,389 ^d
Ile	1,356 ± 0,088 ^a	1,956 ± 0,092 ^b	1,447 ± 0,087 ^a	2,232 ± 0,117 ^c	3,103 ± 0,198 ^d
Thr	1,123 ± 0,080 ^a	2,750 ± 0,178 ^{b,d,e}	1,953 ± 0,072 ^c	2,941 ± 0,185 ^{d,e}	2,716 ± 0,248 ^e
Met	0,852 ± 0,020 ^a	0,776 ± 0,018 ^b	1,051 ± 0,005 ^{c,d}	1,022 ± 0,025 ^d	1,440 ± 0,057 ^e
Lys	2,069 ± 0,116 ^a	3,364 ± 0,179 ^b	2,544 ± 0,143 ^c	3,850 ± 0,166 ^d	5,046 ± 0,451 ^e
Phe	1,469 ± 0,080 ^a	1,249 ± 0,059 ^b	1,063 ± 0,099 ^c	1,503 ± 0,087 ^a	3,264 ± 0,237 ^d
Semiesenciální AMK					
Arg	1,256 ± 0,077 ^a	0,728 ± 0,045 ^{b,c}	0,655 ± 0,051 ^c	1,561 ± 0,063 ^d	2,470 ± 0,205 ^e
His	0,899 ± 0,020 ^a	0,892 ± 0,033 ^a	0,703 ± 0,033 ^b	0,990 ± 0,034 ^c	2,135 ± 0,105 ^d
Neesenciální AMK					
Asp	2,352 ± 0,108 ^a	4,798 ± 0,292 ^{b,e}	3,557 ± 0,155 ^c	5,327 ± 0,298 ^{d,f}	5,257 ± 0,387 ^{e,f}
Glu	5,098 ± 0,160 ^a	6,682 ± 0,367 ^b	5,136 ± 0,273 ^a	7,863 ± 0,606 ^c	15,226 ± 0,843 ^d
Gly	0,536 ± 0,035 ^a	0,758 ± 0,024 ^b	0,584 ± 0,027 ^a	0,815 ± 0,027 ^c	1,210 ± 0,084 ^d
Ala	0,875 ± 0,065 ^a	1,845 ± 0,040 ^{b,e}	1,339 ± 0,070 ^c	2,049 ± 0,039 ^d	1,854 ± 0,122 ^e
Cys	0,345 ± 0,023 ^a	0,565 ± 0,027 ^b	1,166 ± 0,029 ^{c,d}	1,121 ± 0,068 ^d	0,669 ± 0,041 ^e
Pro	2,998 ± 0,072 ^a	2,580 ± 0,164 ^b	1,937 ± 0,179 ^c	2,977 ± 0,191 ^a	6,930 ± 0,408 ^d
Ser	1,510 ± 0,105 ^a	2,155 ± 0,133 ^{b,c}	1,657 ± 0,083 ^a	2,424 ± 0,198 ^c	4,081 ± 0,262 ^d

Pokračování Tabulka 13

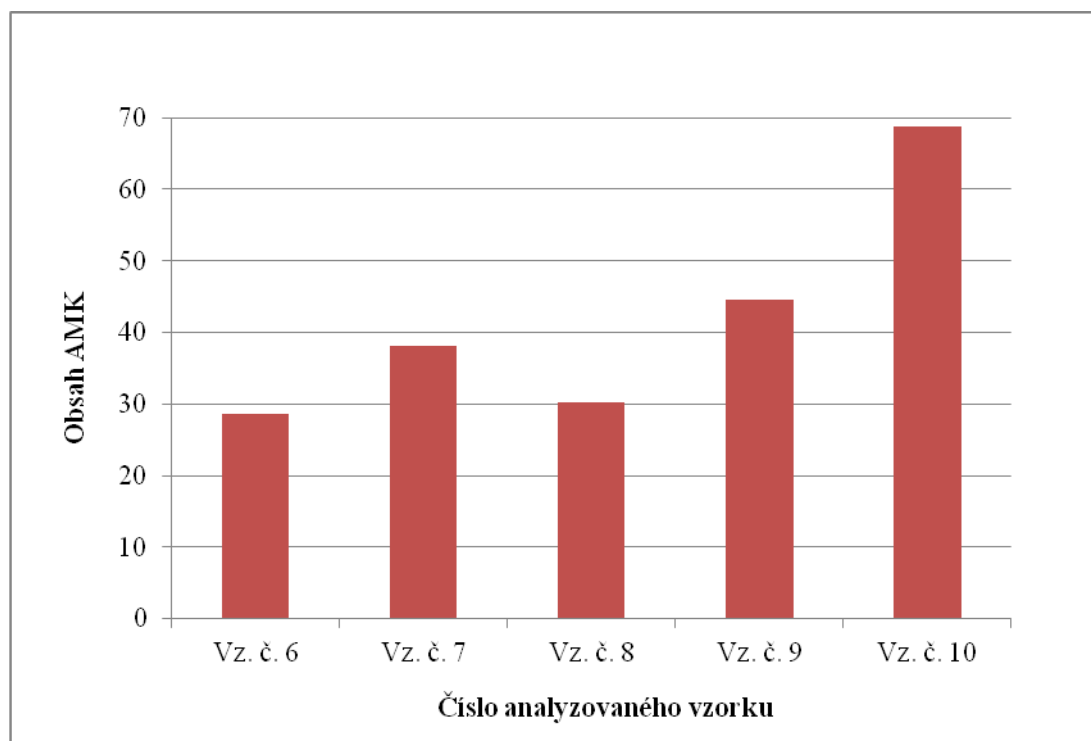
Vzorek č.	6	7	8	9	10
	Obsah AMK				
Neesenciální AMK					
Tyr	1,300 ± 0,098 ^a	1,236 ± 0,084 ^a	0,993 ± 0,063 ^b	1,253 ± 0,048 ^a	3,043 ± 0,266 ^c

Pozn.: Obsah AMK je uveden jako průměr ± SD (n = 3, Cys a Met n = 2). Průměrné hodnoty v řádcích se stejným horním indexem se statisticky neliší ($P \geq 0,05$), průměrné hodnoty s různým horním indexem se statisticky liší ($P < 0,05$).

U vzorků s přídavkem 5 % syrovátkové bílkoviny Lactomin 60, resp. Lactomin 80 byl jako limitující AMK analyzován cystein následovaný argininem u vzorku 8 a histidinem u vzorku 9. Dle zdroje [99] se v sušené syrovátce na pozici limitující AMK střídaly následující: cystein, glycin, metionin, tyrozin a histidin. Autoři Glass a Hedrick uvádějí v sušené syrovátce jako limitující AMK glycin, následovaný cysteinem v případě syrovátky získané kyselým srážením, resp. metioninem u syrovátky získané sladkým srážením [100]. V koncentráte syrovátkových bílkovin byl jako limitující AMK stanoven glycin následovaný histidinem [98]. Lze říci, že naše výsledky tato zjištění částečně potvrzují.

Pokud srovnáme referenční vzorek 6 s inovovanými vzorky (7 – 10) můžeme tvrdit, že v 83,8 % případů došlo jak přídavkem syrovátkové bílkoviny, tak přídavkem kaseinátu vápenatého k nárůstu obsahu jednotlivých AMK ($P < 0,05$).

Z Obrázku 2, jenž zachycuje celkové množství AMK v g.kg^{-1} ve vzorcích 6 – 10, je patrné, že nejnižší celkový obsah AMK byl stanoven ve vzorku 6 banán tvaroh – 30 %.



Obrázek 2 Celkový obsah AMK (v g.kg^{-1}) ve vzorcích 6 – 10

Tento nejnižší celkový obsah AMK ($28,560 \text{ g.kg}^{-1}$) logicky vyplývá z toho, že kromě tvarohu nebyla přidána další mléčná bílkovina. U vzorků s přidavkem 5 % syrovátkové bílkoviny (7 – 9) se celkový obsah AMK pohyboval v rozmezí $30,207 \text{ g.kg}^{-1}$ (banán tvaroh – 30 % s přidavkem syrovátkové bílkoviny Lactomin 60) až $44,640 \text{ g.kg}^{-1}$ (banán tvaroh – 30 % s přidavkem syrovátkové bílkoviny Lactomin 80). Pokud porovnáme celkový obsah AMK ve vzorcích s přidavkem syrovátkové bílkoviny s celkovým obsahem AMK u vzorku s přidavkem 5 % kaseinátu vápenatého ($68,850 \text{ g.kg}^{-1}$), můžeme v obsahu AMK pozorovat signifikantní rozdíl, který je pravděpodobně způsoben tím, že v průběhu sterilace dochází u syrovátkových bílkovin v mnohem vyšší míře k nejrůznějším chemickým reakcím, které vedou ke snížení celkového obsahu AMK (viz str. 58). I přes to však můžeme konstatovat, že jak přidavkem syrovátkové bílkoviny (blíže nespecifikovaná syrovátková bílkovina, syrovátková bílkovina Lactomin 60, resp. Lactomin 80), tak přidavkem kaseinátu vápenatého došlo ve vzorcích 7 – 10 k nárůstu celkového obsahu AMK ve srovnání s referenčním vzorkem 6.

7.3 Porovnání biologické hodnoty bílkovin ve vzorcích

Při hodnocení potřeby a příjmu bílkovin nestačí počítat pouze s celkovým příjmem bílkovin, ale je nutné vzít též v úvahu i aminokyselinové složení, dostupnost peptidových vazeb bílkovin trávicím enzymům a další faktory, které jsou zařazovány pod pojem biologická (též výživová, nutriční) hodnota bílkovin. V současnosti se při určení biologické hodnoty bílkovin vychází ze skutečnosti, že organismus není schopen syntetizovat esenciální AMK. Proto je v bílkovinách stanovováno složení esenciálních AMK a výsledky jsou vztaženy k obsahu esenciálních AMK přítomných v určené standardní bílkovině, která má z hlediska výživy optimální složení esenciálních AMK a je v organismu velmi dobře využitelná [66]. Složení této standardní bílkoviny je uvedeno v kapitole 6.4 (viz Tabulka 9).

Pro zhodnocení biologické hodnoty bílkovin byly využity dvě kritéria, a to aminokyselinové skóre a index esenciálních AMK, jejichž výpočtové vztahy jsou uvedeny v kapitole 6.4. Hodnoty těchto kritérií byly vypočteny z hodnot obsahu jednotlivých AMK ve vzorcích (v 16 g N^{-1}) uvedených v příloze P I (vzorky 1 – 5) a P III (vzorky 6 – 10).

Vypočtené hodnoty aminokyselinového skóre pro jednotlivé vzorky (1 – 5) jsou prezentovány v Tabulce 14. Esenciální AMK, která má ze všech esenciálních AMK nejnižší hodnotu aminokyselinového skóre, je označována jako limitující a určuje výživovou hodnotu bílkoviny [66,101]. V případě analyzovaných vzorků 1 – 5 byly jako limitující stanoveny následující AMK: u vzorků s vyšším přidavkem tvarohu AMK treonin s hodnotou aminokyselinového skóre 92,3 % (banán tvaroh – 30 %) a 88,0 % (malina tvaroh – 40 %), dále AMK izoleucin s aminokyselinovým skóre 80,7 % (broskev tvaroh – 7 %) a 73,0 % (meruňka smetana – 5 %) a v případě vzorku jablko jogurt – 10 % se jednalo o AMK valin s hodnotou sledovaného kritéria 84,4 %.

Hodnota aminokyselinového skóre však bere v úvahu vždy jen jednu esenciální AMK, proto přesnější údaje o biologické hodnotě bílkovin poskytuje index esenciálních AMK, jenž zahrnuje příspěvek všech esenciálních AMK k biologické hodnotě bílkoviny [66,101]. Vypočítané indexy esenciálních AMK pro vzorky 1 – 5 jsou graficky znázorněny na Obrázku 3.

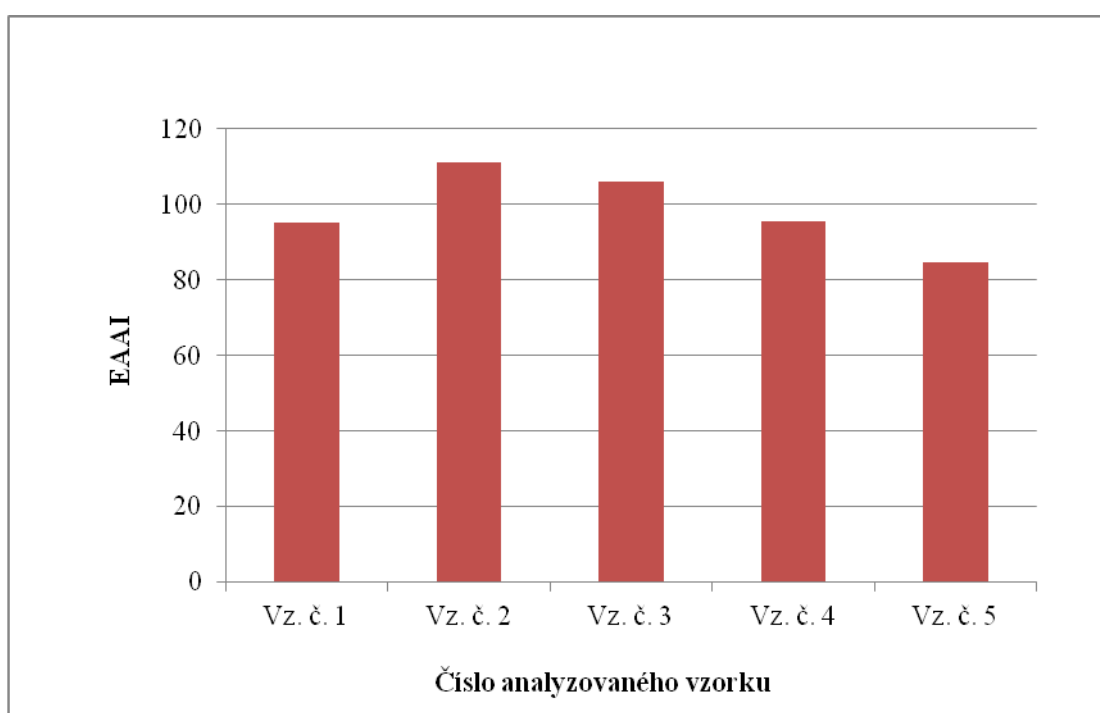
Tabulka 14 Hodnoty aminokyselinového skóre (v %) pro vzorky 1 – 5

Vzorek č.	1	2	3	4	5
Esenciální AMK	AAS				
Val	86,1	100,9	93,7	84,4	73,5
Leu	103,1	122,4	115,3	104,6	86,1
Ile	80,7	95,3	91,8	85,5	73,0
Met a Cys	91,1	108,1	114,1	92,1	92,4
Thr	84,2	92,3	88,0	89,7	89,6
Lys	110,2	129,6	124,5	113,6	90,9
Phe a Tyr	117,4	137,7	120,9	102,0	90,3

Index esenciálních AMK byl nejvyšší u vzorku 2 banán tvaroh – 30 % (111,2 %), následovaný vzorkem 3 malina tvaroh – 40 % (105,9 %). Nejnižší hodnotu tohoto kritéria (84,7 %) vykazoval vzorek 5 meruňka smetana – 5 %. Indexy esenciálních AMK v případě vzorků 1 (broskev tvaroh – 7 %) a 4 (jablko jogurt – 10 %) činily přibližně 95,4 %. Na základě získaných vysokých hodnot indexů esenciálních AMK lze

konstatovat, že analyzované vzorky 1 – 5 jsou z hlediska výživové hodnoty bílkovin velmi kvalitní.

Vzorek banán tvaroh – 30 % lze vzhledem k nejvyšší hodnotě indexu esenciálních AMK i vzhledem k vysokému obsahu bílkovin ($3,57 \text{ g} \cdot 100 \text{ kcal}^{-1}$) splňujícím požadavek legislativy ($2,2 \text{ g} \text{ bílkovin} \cdot 100 \text{ kcal}^{-1}$) vyhodnotit z první pětky analyzovaných vzorků ve vztahu k obsahu bílkovin a výživové hodnotě jako nejvíce vyhovující.



Obrázek 3 Indexy esenciálních AMK (v %) pro vzorky 1 – 5

Vypočítané hodnoty aminokyselinového skóre pro vzorky 6 – 10 analyzované ve druhé fázi experimentu jsou uvedeny v Tabulce 15.

Nejnižší hodnoty aminokyselinového skóre byly u analyzovaných vzorků 6 – 10 vypočteny u následujících AMK: treonin s hodnotou tohoto kritéria 89,3 % (vzorek banán tvaroh – 30 %), metionin a cystein s hodnotou 49,1 % (banán tvaroh – 30 % s přídavkem 5 % blíže nespecifikované syrovátkové bílkoviny) a 82,0 % (banán tvaroh – 30 % s přídavkem 5 % kaseinátu vápenatého) a konečně valin s hodnotou sledovaného kritéria 54,6 % (banán tvaroh – 30 % s přídavkem 5 % syrovátkové

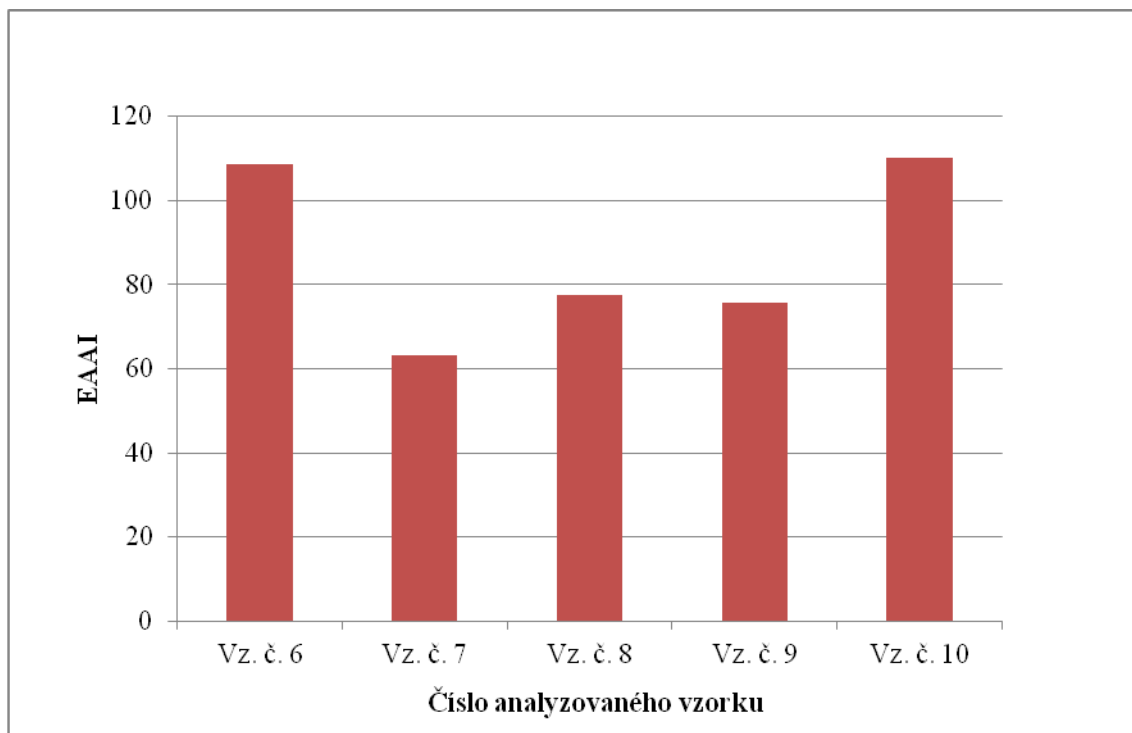
bílkoviny Lactomin 60) a 57,6 % (banán tvaroh – 30 % s přidavkem 5 % syrovátkové bílkoviny Lactomin 80).

Index esenciálních AMK byl nejnižší u vzorku banán tvaroh – 30 % s přidavkem 5 % blíže nespecifikované syrovátkové bílkoviny (63,1 %), naopak nejvyšší hodnotu tohoto sledovaného znaku vykazoval vzorek banán tvaroh – 30 % s přidavkem 5 % kaseinátu vápenatého (110,1 %), následovaný vzorkem banán tvaroh – 30 % (108,5 %) (viz Obrázek 4). Nižší hodnoty indexu esenciálních AMK u vzorků s přidavkem syrovátkové bílkoviny (7 – 9) lze přisuzovat tomu, že index esenciálních AMK udává pouze procentuální podíl, kterým se esenciální AMK podílí na biologické hodnotě bílkoviny, ale nevyovídá o celkovém obsahu AMK. Jedná se tedy pouze o relativní hodnotu.

Tabulka 15 Hodnoty aminokyselinového skóre (v %) pro vzorky 6 – 10

Vzorek č.	6	7	8	9	10
Esenciální AMK	AAS				
Val	103,1	49,8	54,6	57,6	112,7
Leu	119,4	71,2	78,1	83,3	121,8
Ile	101,3	62,6	67,1	72,5	105,5
Met a Cys	102,2	49,1	117,5	79,5	82,0
Thr	89,3	88,0	90,5	95,5	92,4
Lys	114,5	79,7	87,3	92,6	127,1
Phe a Tyr	135,7	52,1	62,5	58,7	140,7

Porovnáním biologické hodnoty bílkovin v analyzovaných vzorcích 6 – 10 lze tvrdit, že z nutričního hlediska se jako nejvhodnější jeví vzorek 10 (banán tvaroh – 30 % s přidavkem 5 % kaseinátu vápenatého), následovaný vzorkem 6 (banán tvaroh – 30 % bez přidavku další mléčné bílkoviny). Všechny vzorky analyzované ve druhé fázi experimentu sice vykazují vysoký obsah bílkovin splňující požadavek legislativy (viz str. 57), avšak vzhledem k aminokyselinové skladbě vzorků se přidavek syrovátkové bílkoviny (blíže nespecifikovaná syrovátková bílkovina, syrovátková bílkovina Lactomin 60, resp. Lactomin 80) nejeví příliš vhodný, neboť při sterilaci pravděpodobně dochází ve značné míře k nejrůznějším chemickým reakcím bílkovin syrovátky, které vedou ke snížení celkového obsahu AMK (viz str. 58).



Obrázek 4 Indexy esenciálních AMK (v %) pro vzorky 6 – 10

Vhodnější se zdá být přidavek kaseinátu vápenatého, avšak je nutné zvážit, zda je tento přidavek nezbytný vzhledem k tomu, že referenční vzorek 6 banán tvaroh – 30 % (shodný se vzorkem 2 analyzovaným v první fázi experimentu) bez přidavku další mléčné bílkoviny je z nutričního hlediska také velmi vhodný a jeho výroba je zajiště ekonomicky méně náročná.

Nicméně i přesto, že naše výsledky nedopadly úplně dle očekávání, je v řadě zemí přidavku syrovátkových bílkovin do potravin využíváno, neboť vykazují řadu příznivých účinků na lidský organizmus. Jsou vynikajícím zdrojem esenciálních AMK, váží některé vitaminy a mohou je tím chránit před oxidací, mohou potlačovat dělení nádorových buněk a mají též prokázané antivirové a antibakteriální vlastnosti. Přidavkem bílkovin syrovátky je možné zajistit nejen zdraví prospěšnou funkci, ale též zvýšit biologickou hodnotu potravin, či upravit její texturu, kdy je využíváno schopnosti syrovátkových bílkovin tvořit gely a stabilizovat emulze a pěny [102].

V práci by proto bylo vhodné i nadále pokračovat a zaměřit se zejména na problematiku vlivu sterilačního záhřevu na obsah bílkovin a aminokyselinovou skladbu ovocných dětských výživ s přidavkem mléčné bílkoviny a taktéž stanovit obsah využitelného

lyzinu, jenž jako nejreaktivnější esenciální AMK podléhá v nejvyšší míře ztrátám v důsledku Maillardovy reakce (viz str. 58).

ZÁVĚR

Předkládaná diplomová práce se zabývá problematikou zvýšení nutriční hodnoty ovocné kojenecké a dětské výživy přidavkem mléčné bílkoviny. Kojenecká a dětská výživa v dnešní době náleží k jedné z nejrychleji se rozvíjejících kategorií v úseku potravin a zahrnuje celou řadu produktů. Zatímco původní role kojenecké a dětské výživy spočívala především v zajištění růstu dítěte, současné studie potvrzují, že nedostatečná nebo nevyvážená strava v prvních letech života má značný vliv nejen na celoživotní stravovací návyky, ale i na zdraví a fyziologické funkce v dospělosti a taktéž na rozvoj civilizačních chorob jako jsou obezita, diabetes či vysoký krevní tlak. U rostoucího organismu je nutná relativní vyšší potřeba bílkovin oproti dospělému jedinci, avšak pouze do určitých mezí, neboť zvýšený příjem bílkovin v kojeneckém věku může mít za následek rozvoj již zmíněných civilizačních chorob, poruchy intelektuálního vývoje, či postižení renálních funkcí. Kojenci a děti do tří let věku jsou vnímáni jako velmi citlivá skupina spotřebitelů, a proto jsou na kojeneckou a dětskou výživu kladeny mimořádné legislativní požadavky na zdravotní nezávadnost, složení, označování a použití. Při její výrobě musí být věnována pozornost jak výběru surovin a postupům nakládání s nimi, tak procesu výroby a taktéž podmínkám zacházení s konečnými výrobky.

Cílem diplomové práce bylo stanovit celkový obsah dusíkatých látek a aminokyselinové složení analyzovaných vzorků a dále porovnat biologickou hodnotu bílkovin v těchto zkoumaných vzorcích. Všechny vzorky byly podrobeny také základním chemickým analýzám (stanovení sušiny, popele, pH, titrační kyselosti a refraktometrické sušiny). Experiment byl proveden ve dvou fázích, v první části byly analýzám podrobeny následující vzorky: broskev tvaroh – 7 %, banán tvaroh – 30 %, malina tvaroh – 40 %, jablko jogurt – 10 % a meruňka smetana – 5 %. Stěžejní však byla druhá fáze, kdy byly rozborům podrobeny vzorky: banán tvaroh – 30 % (referenční vzorek), ke kterému bylo přidáno 5 % další mléčné bílkoviny (blíže nespecifikovaná syrovátková bílkovina, syrovátková bílkovina Lactomin 60, resp. Lactomin 80 a kaseinát vápenatý). Jednalo se jak o ovocné kojenecké a dětské výživy běžně dostupné v obchodní síti, tak o laboratorně vyrobené produkty. Získané výsledky lze shrnout do následujících závěrů:

- z první sady analyzovaných vzorků byl z nutričního hlediska jako nejvhodnější vyhodnocen vzorek banán tvaroh – 30 %, a to vzhledem k vysokému indexu

esenciálních AMK (111,2 %) i vysokému obsahu bílkovin (3,57 g.100 kcal⁻¹) splňujícímu požadavek legislativy,

- analýzou druhé sady zkoumaných vzorků bylo zjištěno, že přídavek 5 % syrovátkové bílkoviny (blíže nespecifikovaná syrovátková bílkovina, syrovátková bílkovina Lactomin 60, resp. Lactomin 80) do ovocných dětských výživ není příliš vhodný, neboť v průběhu sterilace pravděpodobně dochází k nejrůznějším chemickým reakcím, které mají za následek degradaci této bílkoviny a negativně tak ovlivňují aminokyselinovou skladbu vzorků (relativně nízký celkový obsah AMK),
- přídavek 5 % kaseinátu vápenatého do ovocných dětských výživ se jeví jako přijatelnější řešení, neboť vzorek s přídavkem této bílkoviny byl ve vztahu k nutriční hodnotě analyzován ze druhé sady vzorků jako nejvhodnější (index esenciálních AMK 110,1 %, obsah bílkovin 6,89 g.100 kcal⁻¹),
- je nutné zvážit, zda je přídavek kaseinátu vápenatého nezbytný, neboť vzorek banán tvaroh – 30 % bez přídavku další mléčné bílkoviny je z nutričního hlediska také velmi vhodný a jeho výroba je zajisté ekonomicky méně náročná,
- i přesto, že naše výsledky nedopadly úplně dle očekávání, je v řadě zemí přídavku syrovátkových bílkovin do potravin využíváno, neboť vykazují řadu příznivých účinků na lidský organizmus, zvyšují biologickou hodnotu potravin, či upravují její texturu,
- v práci by proto bylo vhodné i nadále pokračovat a zaměřit se zejména na problematiku vlivu sterilačního záhřevu na obsah bílkovin a aminokyselinovou skladbu ovocných dětských výživ s přídavkem mléčné bílkoviny a taktéž stanovit obsah využitelného lyzinu.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- [1] PERLÍN, Ctibor a Miroslav DĚDEK. Proč preferovat průmyslově vyráběnou kojeneckou výživu? *Potravinářská revue speciál*. 2009, roč. 6, č. 8, s. 31-33. ISSN 1801-9102.
- [2] VEJTRUBA, David. Výrobci české výživy nabízí pomoc českým kojencům. *Potravinářská revue*. 2007, roč. 4, č. 3, s. 16-17. ISSN 1801-9102.
- [3] KUDLOVÁ, Eva a Anna MYDLILOVÁ. *Výživové poradenství u dětí do dvou let*. Praha: Grada Publishing, 2005. ISBN 80-247-1039-0.
- [4] ČÍŽKOVÁ, H., A. RAJCHL, R. ŠEVČÍK, L. VOTAVOVÁ a M. VOLDŘICH. Vliv technologie výroby dětských ovocných výživ na změny nutričně a senzoryicky významných složek. In: HOLASOVÁ, M., V. FRIEDLEROVÁ a J. ŠPICNER, eds. *XL. Symposium o nových směrech výroby a hodnocení potravin: Sborník příspěvků*. Praha: VÚPP, 2010. ISSN 1802-1433.
- [5] NEVORAL, Jiří. Kojenecká výživa. *Potravinářská revue*. 2010, roč. 7, č. 6, s. 22-25. ISSN 1801-9102.
- [6] NEVORAL, Jiří et al. *Výživa v dětském věku*. Jinočany: H&H Vyšehradská, 2003. ISBN 80-86-022-93-5.
- [7] TOOD, Joanne M. Dairy products in infant nutrition – latest developments. *Australian Journal of Dairy Technology*. 2003, roč. 2, č. 58, s. 55-57. ISSN 0004-9433.
- [8] Výživa českých kojenců a batolat není ideální, Hami nabízí pomoc: tisková zpráva. *Nutricia babyfood* [online]. 2007, č. 2 [cit. 2012-03-23].
Dostupné z: http://www.nutriciamedical.cz/download/babyfood_2_2007.pdf
- [9] TLÁSKAL, Petr. Historie a současnost počáteční dětské výživy. *Pediatric pro praxi* [online]. 2008, roč. 9, č. 2, s. 86-91 [cit. 2012-03-23]. ISSN 1803-5264. Dostupné z: <http://www.pediatricpropraxi.cz/pdfs/ped/2008/02/04.pdf>
- [10] ŠRÁČKOVÁ, Danuše. Historie kojení I. *Praktická gynekologie* [online]. 2004, č. 3, s. 22-24 [cit. 2012-03-23]. ISSN 1801-8750.
Dostupné z: http://www.prolekare.cz/pdf?ida=pg_04_03_05.pdf

- [11] BARNES, Lewis A. Brief history of infant nutrition and view to the future. *Pediatrics*. 1991, roč. 5, č. 88, s. 1054-1056. ISSN 0031-4005.
- [12] CONNOLLY, Cindy. Saving babies: Child-saving and infant nutrition. *Pediatric Nursing*. 2005, roč. 4, č. 31, s. 309-311. ISSN: 0097-9805.
- [13] ŠRÁČKOVÁ, Danuše. Historie kojení II. *Praktická gynekologie* [online]. 2004, č. 4, s. 26-28 [cit. 2012-03-23]. ISSN 1801-8750.
Dostupné z: http://www.prolekare.cz/pdf?ida=pg_04_04_05.pdf
- [14] NEVORAL, Jiří. Historie umělé výživy. *Nutricia babyfood* [online]. 2006, mimořádné vydání, s. 3-4 [cit. 2012-03-23].
Dostupné z: http://www.nutriciamedical.cz/download/noviny_specialni_vydani.pdf
- [15] DĚDEK, Miroslav. Vývoj a výroba náhradní mléčné kojenecké výživy u nás. *Výživa a potraviny*. 2011, roč. 66, č. 3, s. 76-77. ISSN 1211-846X.
- [16] DĚDEK, Miroslav. Náhradní mléčná kojenecká výživa – minulost, současnost a budoucnost. *Potravinářská revue*. 2010, roč. 7, č. 2, s. 37-39. ISSN 1801-9102.
- [17] HRSTKOVÁ, Hana et al. *Výživa kojenců a mladších batolat*. Brno: Národní centrum ošetřovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, 2003. ISBN 57-861-03.
- [18] Historie společnosti Nutricia Deva, a.s. In: *Nutricia Deva* [online]. [cit. 2012-03-23]. Dostupné z: <http://www.deva.cz/o-nas/historie/>
- [19] Historie. In: *Hamánek kojenecká výživa* [online]. [cit. 2012-03-23]. Dostupné z: <http://www.hamanek.cz/o-nas/historie.html>
- [20] SEDLÁŘOVÁ, Petra et al. *Základní ošetrovatelská péče v pediatrii*. Praha: Grada Publishing, 2008. ISBN 978-80-247-1613-8.
- [21] KLÍMA, Jiří et al. *Pediatric*. Praha: Eurolex Bohemia, 2003. ISBN 80-86432-38-6.
- [22] FRÜHAUF, P., J. NEVORAL a M. PAULOVÁ. *Výživa novorozenců a kojenců: současný pohled*. Olomouc: Solen, 2003. ISBN 80-239-2011-1.

- [23] FRŮHAUF, Pavel. *Výživa kojence: příloha časopisu Pediatrie pro praxi*. Olomouc: Solen, 2008. ISSN 1213-2241.
Dostupné z: http://kddl.lf1.cuni.cz/download/brozura_ped_fruhauf.pdf
- [24] RADA, Vojtěch a Šárka ROČKOVÁ. Mateřské mléko – naše první potravina. *Potravinářská revue*. 2011, roč. 7, č. 4, s. 12-14. ISSN 1801-9102.
- [25] PEYRACHON, Emma. Infant nutrition: The precious first step. *Nutraceutical Business & Technology*. 2009, roč. 140, č. 5, s. 40-42. ISSN 1745-8307.
- [26] POKORNÁ, Jitka. Mateřské mléko potravina pro nejmenší. *Výživa a potraviny*. 2011, roč. 66, č. 7, s. 52-54. ISSN 1211-846X.
- [27] SÝKORA, Josef. Prebiotika a kojenecká výživa. *Pediatrie pro praxi* [online]. 2011, roč. 12, č. 3, s. 180-185 [cit. 2012-03-23]. ISSN 1803-5264.
Dostupné z: <http://www.pediatriepropraxi.cz/pdfs/ped/2011/03/09.pdf>
- [28] WOUTERS, Wendeline a Bas KUIPERS. Milk-based ingredients for infant nutrition. *Agro Food Industry Hi-tech*. 2009, roč. 20, č. 6, s. 36-38. ISSN 1722-6996.
- [29] BRONSKÝ, Jiří. Mateřské mléko jako zdroj bakterií s potenciálně probiotickými účinky. *Pediatrie pro praxi* [online]. 2011, roč. 12, č. 2, s. 94-95 [cit. 2012-03-23]. ISSN 1803-5264.
Dostupné z: <http://www.pediatriepropraxi.cz/pdfs/ped/2011/02/06.pdf>
- [30] MUNTAU, Ania Carolina. *Pediatrie*. Praha: Grada Publishing, 2009. ISBN 978-80-247-2525-3.
- [31] ILLKOVÁ, O., L. NEČASOVÁ a Z. VAŠÍČKOVÁ. *Zdravá výživa malých dětí*. Praha: Portál, 2005. ISBN 80-7367-030-5.
- [32] GREGORA, Martin a Dana ZÁKOSTELECKÁ. *Jídelníček kojenců a malých dětí: kojení a umělé mléko, nemléčné příkrmy, dětská obezita, vegetariánské stravování*. 2. dopl. a aktualiz. vyd. Praha: Grada Publishing, 2009. ISBN 978-80-247-2716-5.
- [33] IBURG, Anne. *Výživa dětí: kojíme, krmíme, učíme jíst*. Praha: Svojtka & Co., 2009. ISBN 978-80-256-0223-2.

- [34] GREGORA, Martin. *Výživa malých dětí: výchova ke správné výživě, skladba dětské výživy, obezita v dětském věku a jak jí předcházet, alergie a funkční potraviny*. Praha: Grada Publishing, 2004. ISBN 80-247-9022-X.
- [35] SPOLEČNOST PRO VÝŽIVU. *Referenční hodnoty pro příjem živin*. Praha: Výživaservis, 2011. ISBN 978-80-254-6987-3.
- [36] KOMPRDA, Tomáš. *Výživou ke zdraví*. Velké Bílovice: TeMi CZ, 2009. ISBN 978-80-87156-41-4.
- [37] FORŠT, Jaroslav. *Bio a dítě*. Praha: IFP Publishnig & Engineering, 2008. ISBN 978-80-903997-1-6.
- [38] FRŮHAUF, Pavel. Význam tuků v kojeneckém věku. *Nutricia babyfood* [online]. 2006, mimořádné vydání, s. 11-13 [cit. 2012-03-24]. Dostupné z: http://www.nutriciamedical.cz/download/noviny_specialni_vydani.pdf
- [39] AGGETT, P., F. HASCHKE, W. HEINE, O. HERNELL, B. KOLETZKO, H. LAFEBER, A. ORMISSION, J. REY a R. TORMO. Committee report: Childhood diet and prevention of coronary heart disease. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 1994, roč. 3, č. 19, s. 261-269. ISSN 0277-2116.
- [40] BENTON, David. Diet, behaviour and cognition in children. In: KILCAST, David a Fiona ANGUS, eds. *Developing children's food products*. Philadelphia: Woodhead Publishing, 2011, s. 62-81. ISBN 978-0-85709-113-0. Dostupné také z: http://www.knovel.com/web/portal/browse/display?_EXT_KNOVEL_DISPLAY_bookid=3884&VerticalID=0
- [41] VYHNÁLKOVÁ, Ludmila. Význam PUFA omega-3 pro děti. *Pediatric pro praxi* [online]. 2010, roč. 11, č. 5, s. 336-338 [cit. 2012-03-24]. ISSN 1803-5264. Dostupné z: <http://www.pediatricpropraxi.cz/pdfs/ped/2010/05/14.pdf>
- [42] FRŮHAUF, Pavel. Význam mastných kyselin v kojenecké výživě. *Vox pediatric*. 2006, roč. 6, č. 6, s. 30. ISSN 1213-2241.
- [43] DOSTÁL, Jiří a Petr KAPLAN. *Lékařská chemie II*. Brno: Masarykova univerzita, 2003. ISBN 80-210-2731-2.

- [44] WELLS, John. Důležitost LCPUFA ve výživě a vývoji kojenců. *Nutricia babyfood* [online]. 2006, mimořádné vydání, s. 14-16 [cit. 2012-03-24]. Dostupné z: http://www.nutriciamedical.cz/download/noviny_specialni_vydani.pdf
- [45] KOLETZKO, B., I. THIEL a P.O. ABIODUN. The fatty acid composition of human milk in Europe and Africa. *Journal of Pediatrics*. 1992, roč. 4, č. 120, s. 62-70. ISSN 0022-3476.
- [46] KOLETZKO, Berthold et al. Global Standard for the composition of infant formula: Recommendations of an ESPGHAN coordinated international expert group. *Journal of Pediatric Gastroenterology and Nutrition*. 2005, roč. 5, č. 41, s. 584-599. ISSN 0277-2116.
- [47] KUNZ, Christian a Sebastian RUDOLFF. Biological functions of oligosaccharides in human milk. *Acta Paediatrica*. 1993, roč. 11, č. 82, s. 903-912. ISSN 0803-5253.
- [48] DOSTÁL, J., H. PAULOVÁ, J. SLANINA a E. TÁBORSKÁ. *Biochemie pro bakaláře*. Brno: Masarykova univerzita, 2003. ISBN 80-210-3232-4.
- [49] MRZENA, Bohuslav. *Pediatric*. Brno: Paido, 2009. ISBN 978-80-7315-182-9.
- [50] LÜLLMANN, H., K. MOHR a M. WEHLING. *Farmakologie a toxikologie*. Vyd. 2. české. Praha: Grada Publishing, 2004. ISBN 80-247-0836-1.
- [51] BENDER, David. *Nutritional biochemistry of the vitamins*. New York: Cambridge, 2003. ISBN 978-0-521-80388-5.
- [52] Are you getting enough vitamin B6? *Tufts University Health & Nutrition Letter*. 2008, roč. 66, č. 26, s. 6. ISSN 1526-0143.
- [53] BUTTRISS, Judy. Folic acid and health. *Nutrition Bulletin*. 2000, roč. 1, č. 25, s. 67-68. ISSN 1471-9827.
- [54] ZEMPLINI, J., S. S. K. WIJERATNE a Y. I. HASSAN. Biotin. *BioFactors*. 2009, roč. 1, č. 35, s. 36-46. ISSN 0951-6433.

- [55] ČERMÁKOVÁ Marta a Irena ŠTĚPÁNOVÁ. *Klinická biochemie, 1. díl. 2. upr. vyd.* Brno: Národní centrum ošetřovatelství a nelékařských zdravotnických oborů, 2010. ISBN 978-80-7013-515-0.
- [56] ŠTUNDLOVÁ, Darja. Zajištění optimálního přívodu jodu ve stravě. *Výživa a potraviny*. 2007, roč. 62, č. 5, s. 134-135. ISSN 1211-846X.
- [57] ČÍŽKOVÁ, H., A. RAJCHL, R. ŠEVČÍK a M. VOLDŘICH. Změny sensorických a nutričních vlastností ovocných dětských výživ, stanovení doby trvanlivosti. *Výživa a potraviny*. 2010, roč. 65, č. 6, s. 159-162. ISSN 1211-846X.
- [58] Vyhláška č. 54 ze dne 13. února 2004 o potravinách určených pro zvláštní výživu a způsobu jejich použití. In: *Sbírka zákonů České republiky*. 2004, částka 17.
Dostupné z: <http://www.szpi.gov.cz/ViewFile.aspx?docid=1006188>
- [59] Příloha k vyhlášce č. 54 ze dne 13. února 2004 o potravinách určených pro zvláštní výživu a způsobu jejich použití. In: *Sbírka zákonů České republiky*. 2004, částka 17.
Dostupné z: <http://www.szpi.gov.cz/ViewFile.aspx?docid=1006189>
- [60] ŠATOPLET, Jan. Kdo kontroluje kvalitu zeleniny a potravin? In: *Ekolist* [online]. 23.10. 2003 [cit. 2012-03-26]. Dostupné z: <http://ekolist.cz/cz/zelena-domacnost/dotazy-a-odpovedi/kdo-kontroluje-kvalitu-zeleniny-a-potravin>
- [61] VOET, Donald a Judith G. VOET. *Biochemistry*. 4th ed. Hoboken: John Wiley & Son, 2011. ISBN 978-0-470-57095-1.
- [62] ADDERLY, Brenda. Amino acids: The building blocks of good health. *Better Nutrition*. 1999, roč. 9, č. 61, s. 58-63. ISSN 0405-668X.
- [63] PÁNEK, J., J. POKORNÝ a J. DOSTÁLOVÁ. *Základy výživy*. Praha: Svobodaservis, 2002. ISBN 80-86320-23-5.
- [64] REEDS, Peter J. Criteria and significance of dietary protein sources in humans: Dispensable and indispensable amino acids for humans. *The Journal of Nutrition*. 2000, č. 130, s. 1835-1840. ISSN 0022-3166.

- [65] MATTHEWS, Dwight E. a Robert G. CAMPBELL. The effect of dietary protein intake on glutamine and glutamate nitrogen metabolism in humans. *The American Journal of Clinical Nutrition*. 1992, roč. 5, č. 55, s. 963-970. ISSN 0002-9165.
- [66] VELÍŠEK, Jan. *Chemie potravin 1*. Tábor: OSSIS, 1999. ISBN 80-902391-3-7.
- [67] DEWEY, K.G., G. BEATON, C. FJELD, B. LÖNNERDAL a P.J. REEDS. Protein requirement for infants and children. *European Journal of Clinical Nutrition*. 1996, č. 50, s. 8119-8150. ISSN 0954-3007.
- [68] FRÜHAUF, Pavel. Současný pohled na bílkoviny v dětské výživě. *Vox paediatricae*. 2004, roč. 4, č. 4, s. 32-33. ISSN 1213-2241.
- [69] WATERLOW, John Conrad. Protein requirements of infants: an operational assessment. *Proceedings of the Nutrition Society*. 1990, roč. 3, č. 49, s. 499-506. ISSN 0029-6651.
- [70] BRÄNDLE, E., H.G. SIEBERTH a R.E. HAUTMANN. Effect of chronic protein intake on the renal function in healthy subject. *European Journal of Clinical Nutrition*. 1996, č. 50, s. 734-740. ISSN 0954-3007.
- [71] BARZEL, Uriel S. a Linda K. MASSEY. Excess dietary protein can adversely affect bone. *The Journal of Nutrition*. 1998, č. 128, s. 1051-1053. ISSN 0022-3166.
- [72] METGES, Cornelia C. a Christian A. BARTH. Metabolic consequences of a high dietary protein intake in adulthood: Assessment of the available evidence. *The Journal of Nutrition*. 2000, č. 130, s. 886-889. ISSN 0022-3166.
- [73] KUBÁŇ, Vlastimil a Petr KUBÁŇ. *Analýza potravin*. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita, 2007. ISBN 978-80-7375-036-7.
- [74] DAVÍDEK, Jiří. *Laboratorní příručka analýzy potravin*. 2. vyd. Praha: Státní nakladatelství technické literatury, 1981.
- [75] HÁLKOVÁ, J., M. RUMÍŠKOVÁ a J. RIEGLOVÁ. *Analýza potravin: laboratorní cvičení*. Újezd u Brna: Ivan Straka, 2000. ISBN 80-902775-4-3.

- [76] *Analýza potravin přírodní látky* [online]. 2007 [cit. 2012-03-26].
Dostupné z: http://utbfiles.cepac.cz/moduly/M0028_chemie_a_analyza_potraviny/distancni_text_II/M0028_chemie_a_analyza_potraviny_distancni_text_ii.pdf
- [77] *Analýza a hodnocení potravin I* [online]. 2007 [cit. 2012-03-26].
Dostupné z: http://utbfiles.cepac.cz/moduly/M0032_analyza_a_hodnoceni_potraviny/distancni_text/M0032_analyza_a_hodnoceni_potraviny_distancni_text.pdf
- [78] ČSN ISO 1842. *Ovocné a zeleninové výrobky. Stanovení pH*. Praha: Český normalizační institut, 2000. 8 s. Třídící znak 56 0440.
- [79] ČSN ISO 750. *Ovocné a zeleninové výrobky. Stanovení titrační kyselosti*. Praha: Český normalizační institut, 1999. 8 s. Třídící znak 56 0294.
- [80] PRÍBELA, A., L. ŠORMAN a V. SMIRNOV. *Návody na laboratorne cvičenie z analýzy potravín*. Bratislava: Edičné stredisko SVŠT, 1979.
- [81] *Chemie potravin* [online]. 2007 [cit. 2012-03-26]. Dostupné z: http://utbfiles.cepac.cz/moduly/M0028_chemie_a_analyza_potraviny/distancni_text/M0028_chemie_a_analyza_potraviny_distancni_text.pdf
- [82] SELF, Ron. *Extraction of organic analytes from foods – A manual of methods*. London: Royal Society of Chemistry, 2005. ISBN 978-0-85404-592-1.
- [83] FOUNTOULAKIS, Michael a Hans-Werner LAHM. Hydrolysis and amino acid composition analysis of proteins. *Journal of Chromatography A*. 1998, roč. 2, č. 826, s. 109-134. ISSN 0021-9673.
- [84] WEISS, M., M. MANNEBERG, J.-F. JURANVILLE, H.-W. LAHM a M. FOUNTOULAKIS. Effect of the hydrolysis method on the determination of the amino acid composition of proteins. *Journal of Chromatography A*. 1998, roč. 2, č. 795, s. 263-275. ISSN 0021-9673.
- [85] KOPLÍK, Richard. Bílkoviny a aminokyseliny. In: *VŠCHT* [online]. [cit. 2012-03-26]. Dostupné z: <http://web.vscht.cz/koplikr/Bilkoviny%20a%20aminokyseliny.pdf>
- [86] DOUŠA, Michal. *Stanovení aminokyselin v krmivech* [online]. [cit. 2012-03-26]. Dostupné z: <http://hplc1.sweb.cz/Amk/amk.htm>

- [87] PEČ, Pavel et al. *Laboratorní cvičení z biochemie*. Olomouc: Univerzita Palackého, 2000. ISBN 80-244-0069-3.
- [88] KLOUDA, Pavel. *Moderní analytické metody*. 2., upr. a dopl. vyd. Ostrava: Pavel Klouda, 2003. ISBN 80-86369-07-2.
- [89] RADA-MENDOZA, M., M.L. SANZ, A. OLANO a M. VILLAMIEL. Formation of hydroxymethylfurfural and furosine during the storage of jams and fruit-based infant foods. *Food Chemistry*. 2004, roč. 4, č. 85, s. 605-609. ISSN 0308-8146.
- [90] RADA-MENDOZA, M., A. OLANO a M. VILLAMIEL. Furosine as a indicator of Maillard reaction in jams and fruit-based infant foods. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2002, roč. 14, č. 50, s. 4141-4145. ISSN 0021-8561.
- [91] LAZÁRKOVÁ, Zuzana. *Faktory ovlivňující jakost sterilovaných tavených sýrů*. Zlín: FT UTB, 2009. Dizertační práce.
- [92] BUŇKA, F., J. HRABĚ a S. KRÁČMAR. The effect of sterilisation on amino acid contents in processed cheese. *International Dairy Journal*. 2004, roč. 9, č. 14, s. 829-831. ISSN 0958-6946.
- [93] ČÍŽKOVÁ, Helena. *Ústní sdělení*. 16. 3. 2012.
- [94] *Konzervace a balení potravin* [online]. 2007 [cit. 2012-03-26].
Dostupné z: http://utbfiles.cepac.cz/moduly/M0011_konzervace_a_baleni_potraviny/distančni_text/M0011_konzervace_a_baleni_potraviny_distančni_text.pdf
- [95] MESÍAS-GARCÍA, M., E. GUERRA-HERNÁNDEZ a B. GARCÍA-VILLANOVA. Determination of furan precursors and some thermal damage markers in baby foods: Ascorbic acid, dehydroascorbic acid, hydroxymethylfurfural and furfural. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2010, č. 58, s. 6027-6032. ISSN 0021-8561.
- [96] HAMÉ, s.r.o. *Výrobové specifikace*. Podivín, 2010, 2011.

- [97] U.S. DEPARTMENT OF AGRICULTURE. *USDA National nutrient database for standard reference, release 23* [online]. 2011 [cit. 2012-03-26]. ISBN 978-1-61583-902-5.
Dostupné z: http://www.knovel.com/web/portal/basic_search/display?_EXT_KNOVEL_DISPLAY_bookid=3710&_EXT_KNOVEL_DISPLAY_fromSearch=true&_EXT_KNOVEL_DISPLAY_Page=1&_EXT_KNOVEL_DISPLAY_sistring=0;;;0;;;0;;;0;;;0;;;0;;;103429,%2097946;;;-2;;;0;;;0;;;0;;;0;;;0;;;0;;;0&_EXT_KNOVEL_DISPLAY_ststring=amino%20acids%20in%20cottage%20cheese;;;;;0;;;0;;;0;;;0&_EXT_KNOVEL_DISPLAY_searchType=basic
- [98] RUTHERFURD, Shane M. a Paul J. MOUGHAN. The digestible amino acid composition of several milk proteins: Application of a new bioassay. *Journal of Dairy Science*. 1998, roč. 4, č. 81, s. 909-917. ISSN 1525-3198.
- [99] MAVROPOULOU, I.P. a F.V. KOSINOWSKI. Composition, solubility and stability of whey powders. *Journal of Dairy Science*. 1973, roč. 9, č. 56, s. 1128-1134. ISSN 1525-3198.
- [100] GLASS, L. a T.I. HEDRICK. Nutritional composition of sweet- and acid-type dry wheys. I. Major factors including amino acids. *Journal of Dairy Science*. 1977, roč. 2, č. 60, s. 185-189. ISSN 1525-3198.
- [101] Výživová hodnota bílkovin. In: *Institut Galenus* [online]. [cit. 2012-04-06]. Dostupné z: <http://galenus.cz/bilkoviny-vyzivova-hodnota-bilkovin.php>
- [102] HANUŠOVÁ, Jana a Irena NĚMEČKOVÁ. Syrovátkové bílkoviny jako surovina pro výrobu funkčních potravin. *Výživa a potraviny*. 2011, roč. 66, č. 6, s. 142-144. ISSN 1211-846X.

SEZNAM POUŽITÝCH SYMBOLŮ A ZKRATEK

AAS	Amino acid score (aminokyselinové, též chemické skóre).
AMK	Aminokyselina/ny.
EAAI	Essential amino acid index (index esenciálních aminokyselin).
FAO	Food and Agriculture Organisation (Organizace pro výživu a zemědělství).
IEC	Ion-exchange chromatography (iontově-výměnná chromatografie).
LCPUFA	Long chain polyunsaturated fatty acids (polynenasycené mastné kyseliny s dlouhým řetězcem).
LF	Laktoferin.
MM	Mateřské mléko.
OMM	Oligosacharidy mateřského mléka.
WHO	World Health Organisation (Světová zdravotnická organizace).

SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1 Celkový obsah AMK ve vzorcích 1 – 5	66
Obrázek 2 Celkový obsah AMK ve vzorcích 6 – 10	70
Obrázek 3 Indexy esenciálních AMK pro vzorky 1 – 5.....	73
Obrázek 4 Indexy esenciálních AMK pro vzorky 6 – 10.....	75

SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 Bílkovinné složení MM a kravského mléka	18
Tabulka 2 Složení MM a kravského mléka	20
Tabulka 3 Předpokládaný energetický příjem podle WHO	24
Tabulka 4 Odhadované hodnoty pro minimální příjem a hodnoty pro doporučený příjem minerálních látek a stopových prvků v kojeneckém a dětském věku	31
Tabulka 5 Výživová tvrzení a podmínky jejich použití týkající se kojenecké výživy	34
Tabulka 6 Doporučený příjem bílkovin v kojeneckém věku	36
Tabulka 7 Charakteristika vzorků 1 – 5	41
Tabulka 8 Charakteristika vzorků 6 – 10	43
Tabulka 9 Obsah esenciálních AMK ve standardní bílkovině dle FAO/WHO	53
Tabulka 10 Výsledky stanovení dusíkatých látek, sušiny, popele, pH, titrační kyselosti a refraktometrické sušiny u vzorků 1 – 5	55
Tabulka 11 Výsledky stanovení dusíkatých látek, sušiny, popele, pH, titrační kyselosti a refraktometrické sušiny u vzorků 6 – 10	56
Tabulka 12 Obsah AMK ve vzorcích 1 – 5	63
Tabulka 13 Obsah AMK ve vzorcích 6 – 10	68
Tabulka 14 Hodnoty aminokyselinového skóre pro vzorky 1 – 5	72
Tabulka 15 Hodnoty aminokyselinového skóre pro vzorky 6 – 10	74

SEZNAM PŘÍLOH

Příloha P I Obsah AMK (v g.16 g N⁻¹) ve vzorcích 1 – 5

Příloha P II Aminokyselinové složení tvarohu (v g.kg⁻¹)

Příloha P III Obsah AMK (v g.16 g N⁻¹) ve vzorcích 6 – 10

PŘÍLOHA P I: OBSAH AMK (v g.16 g N⁻¹) VE VZORCÍCH 1 – 5

Vzorek č.	1	2	3	4	5
	Obsah AMK				
Esenciální AMK					
Val	4,305	5,046	4,684	4,219	3,675
Leu	7,220	8,569	8,073	7,324	6,027
Ile	3,227	3,813	3,671	3,420	2,921
Thr	3,369	3,691	3,519	3,588	3,584
Met	2,418	2,788	3,013	2,326	1,725
Lys	5,950	6,997	6,722	6,136	4,909
Phe	3,870	4,500	4,141	3,641	2,989
Semiesenciální AMK					
Arg	3,243	3,573	3,149	3,241	3,197
His	2,430	3,020	2,446	2,375	2,142
Neesenciální AMK					
Asp	12,254	7,402	7,028	11,615	24,540
Glu	14,404	17,448	16,922	14,098	12,046
Gly	1,912	1,768	1,583	1,839	2,452
Ala	2,961	2,913	2,739	2,994	3,685
Cys	0,771	0,996	0,981	0,898	1,509
Pro	5,991	9,172	8,679	6,681	8,005
Ser	4,467	5,089	4,850	4,593	4,587
Tyr	3,290	3,899	3,236	2,581	2,517
Součet	82,082	90,684	85,436	81,569	90,510

PŘÍLOHA P II: AMINOKYSELINOVÉ SLOŽENÍ TVAROHU (v g.kg⁻¹)

[97]

Esenciální AMK	
Val	7,48
Leu	11,16
Ile	5,91
Thr	5,00
Met	2,69
Lys	9,34
Phe	5,77
Semiesenciální AMK	
Arg	4,97
His	3,26
Neesenciální AMK	
Asp	9,05
Glu	26,03
Gly	2,22
Ala	3,84
Cys	0,66
Pro	12,29
Ser	6,39
Tyr	6,04
Součet	122,10

PŘÍLOHA P III: OBSAH AMK (v g.16 g N⁻¹) VE VZORCÍCH 6 – 10

Vzorek č.	6	7	8	9	10
	Obsah AMK				
Esenciální AMK					
Val	5,156	2,492	2,731	2,882	5,634
Leu	8,360	4,986	5,465	5,834	8,525
Ile	4,053	2,503	2,683	2,899	4,221
Thr	3,570	3,520	3,621	3,820	3,696
Met	2,547	0,993	1,949	1,327	1,959
Lys	6,184	4,306	4,715	5,000	6,866
Phe	4,391	1,599	1,970	1,952	4,441
Semiesenciální AMK					
Arg	3,754	0,932	1,215	2,028	3,360
His	2,687	1,142	1,304	1,286	2,905
Neesenciální AMK					
Asp	7,030	6,142	6,594	6,918	7,153
Glu	15,238	8,553	9,521	10,212	20,717
Gly	1,602	0,970	1,082	1,059	1,647
Ala	2,615	2,361	2,482	2,661	2,523
Cys	1,031	0,724	2,162	1,456	0,910
Pro	8,961	3,302	3,590	3,866	9,429
Ser	4,514	2,759	3,073	3,148	5,552
Tyr	3,886	1,582	1,841	1,627	4,141
Součet	85,579	48,866	55,998	57,975	93,679